

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 024 951**

51 Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)

A61K 31/713 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.07.2023** **PCT/EP2023/070899**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.02.2024** **WO24023251**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.07.2023** **E 23749018 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2025** **EP 4388100**

54 Título: **Compuestos de ácido nucleico bicatenario que inhiben ZPI**

30 Prioridad:

27.07.2022 US 202263369631 P
06.02.2023 EP 23155105

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
05.06.2025

73 Titular/es:

E-THERAPEUTICS PLC (100.00%)
4 Kingdom Street, Paddington Central
London W2 6BD, GB

72 Inventor/es:

MCCARTHY, AMY;
CRAGGS, GRAHAM;
LONGDEN, JAMES;
DE SANTIAGO, INES;
BROWN, DUNCAN;
MORTAZAVI, AHMAD ALI;
MANNELLA, VIVIANA;
JAYARAMAN, MUTHUSAMY;
DEBACKER, ALEXANDRE y
MOGG, ADRIAN JAMES

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 3 024 951 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

Compuestos de ácido nucleico bicatenario que inhiben ZPI

5 **Campo**

La presente invención proporciona nuevos compuestos de ácido nucleico, adecuados para uso terapéutico. Adicionalmente, la presente divulgación proporciona métodos para preparar estos compuestos, así como métodos para usar dichos compuestos para el tratamiento de diversas enfermedades y afecciones. Dichos métodos no forman parte de la invención reivindicada.

10 **Antecedentes de la invención**

Los compuestos de ácido nucleico tienen importantes aplicaciones terapéuticas en medicina. Los ácidos nucleicos pueden usarse para silenciar genes que son responsables de una enfermedad particular. El silenciamiento génico evita la formación de una proteína mediante la inhibición de la traducción. Es importante destacar que los agentes de silenciamiento génico son una alternativa prometedora a los compuestos orgánicos pequeños tradicionales que inhiben la función de la proteína unida a la enfermedad. ARNsi, ARN antisentido y micro-ARN son oligonucleótidos/oligonucleósidos que previenen la formación de proteínas por silenciamiento génico.

En particular, se han desarrollado varios compuestos de ARNsi modificados en las últimas dos décadas con fines diagnósticos y terapéuticos, incluyendo agentes terapéuticos de ARNsi/ARNi para el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo enfermedades del sistema nervioso central, enfermedades inflamatorias, trastornos metabólicos, oncología, enfermedades infecciosas y enfermedades oculares.

La presente invención se refiere a compuestos de ácido nucleico, para su uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades.

25 **Declaraciones de la invención**

La invención es como se define en las reivindicaciones. Los siguientes aspectos son útiles para comprender la invención, pero no forman parte de la invención reivindicada en su totalidad.

Según un primer aspecto, se proporciona un ácido nucleico para inhibir la expresión de ZPI, que comprende una región dúplex que comprende una primera cadena y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera cadena es: (i) al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito del gen ZPI, y (ii) comprende al menos 17 nucleósidos contiguos que difieren en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las secuencias de la primera cadena como se enumera en la Tabla 2.

Según un segundo aspecto, se proporciona un ácido nucleico para inhibir la expresión de ZPI, que comprende una región dúplex que comprende una primera cadena y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera cadena es: (i) al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito del gen ZPI, y (ii) comprende al menos 17 nucleósidos contiguos que difieren en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las secuencias modificadas de la primera cadena como se enumera en la Tabla 3.

Un ácido nucleico como se describe en la presente memoria, en donde la primera cadena comprende los nucleósidos 2-18 de una cualquiera de las secuencias según el primer y segundo aspectos anteriores

Un ácido nucleico según el primer aspecto anterior, en donde la segunda cadena comprende una secuencia de nucleósidos de al menos 17 nucleósidos contiguos que difieren en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las secuencias de la segunda cadena como se enumera en la Tabla 2, y en donde la segunda cadena tiene una región de al menos un 85 % de complementariedad sobre los 17 nucleósidos contiguos con la primera cadena.

Un ácido nucleico según el primer aspecto anterior, en donde la segunda cadena comprende una secuencia de nucleósidos de al menos 17 nucleósidos contiguos que difieren en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las secuencias de la segunda cadena como se enumera en la Tabla 2, y en donde la región dúplex comprende al menos 14, 15, 16 o 17 pares de bases complementarios.

Un ácido nucleico según el segundo aspecto anterior, en donde la segunda cadena comprende una secuencia de nucleósidos de al menos 17 nucleósidos contiguos que difieren en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las secuencias modificadas de la segunda cadena como se enumera en la Tabla 4, y en donde la segunda cadena tiene una región de al menos un 85 % de complementariedad sobre los 17 nucleósidos contiguos con la primera cadena.

Un ácido nucleico según el segundo aspecto anterior, en donde la segunda cadena comprende una secuencia de nucleósidos de al menos 17 nucleósidos contiguos que difieren en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las secuencias modificadas de la segunda cadena como se enumera en la Tabla 4, y en donde la región dúplex comprende al menos 14, 15, 16 o 17 pares de bases complementarios.

5 Un ácido nucleico según el primer aspecto anterior, en donde la primera cadena comprende una cualquiera de las secuencias de la primera cadena como se enumeran en la Tabla 2.

10 Un ácido nucleico según el segundo aspecto anterior, en donde la primera cadena comprende una cualquiera de las secuencias modificadas de la primera cadena como se enumeran en la Tabla 3.

Un ácido nucleico según el primer aspecto anterior, en donde la segunda cadena comprende una cualquiera de las secuencias de la segunda cadena como se enumeran en la Tabla 2.

15 Un ácido nucleico según el segundo aspecto anterior, en donde la segunda cadena comprende una cualquiera de las secuencias modificadas de la segunda cadena como se enumeran en la Tabla 4.

20 Un ácido nucleico según el primer aspecto anterior, en donde la primera cadena comprende una cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 228, SEQ ID NO: 229, SEQ ID NO: 231, SEQ ID NO: 232, SEQ ID NO: 238, SEQ ID NO: 239.

25 Un ácido nucleico según el segundo aspecto anterior, en donde la primera cadena comprende una cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 366, SEQ ID NO: 367, SEQ ID NO: 368, SEQ ID NO: 369, SEQ ID NO: 371, SEQ ID NO: 372, SEQ ID NO: 378, SEQ ID NO: 379, SEQ ID NO: 384, SEQ ID NO: 385, SEQ ID NO: 387, SEQ ID NO: 388, SEQ ID NO: 389, SEQ ID NO: 466, SEQ ID NO: 467, SEQ ID NO: 468, SEQ ID NO: 469, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 478, SEQ ID NO: 479, SEQ ID NO: 498, SEQ ID NO: 518, SEQ ID NO: 538, SEQ ID NO: 546, SEQ ID NO: 547, SEQ ID NO: 548, SEQ ID NO: 549, SEQ ID NO: 551, SEQ ID NO: 552, SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 559.

30 Un ácido nucleico según el primer aspecto anterior, en donde la segunda cadena comprende una cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 246, SEQ ID NO: 247, SEQ ID NO: 248, SEQ ID NO: 249, SEQ ID NO: 251, SEQ ID NO: 252, SEQ ID NO: 258, SEQ ID NO: 259, SEQ ID NO: 264, SEQ ID NO: 265, SEQ ID NO: 267, SEQ ID NO: 268, SEQ ID NO: 269, SEQ ID NO: 346, SEQ ID NO: 347, SEQ ID NO: 348, SEQ ID NO: 349, SEQ ID NO: 351, SEQ ID NO: 352, SEQ ID NO: 358, SEQ ID NO: 359.

35 Un ácido nucleico según el segundo aspecto anterior, en donde la segunda cadena comprende una cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 566, SEQ ID NO: 567, SEQ ID NO: 568, SEQ ID NO: 569, SEQ ID NO: 571, SEQ ID NO: 572, SEQ ID NO: 578, SEQ ID NO: 579, SEQ ID NO: 584, SEQ ID NO: 585, SEQ ID NO: 587, SEQ ID NO: 588, SEQ ID NO: 589, SEQ ID NO: 666, SEQ ID NO: 667, SEQ ID NO: 668, SEQ ID NO: 669, SEQ ID NO: 671, SEQ ID NO: 672, SEQ ID NO: 678, SEQ ID NO: 679, SEQ ID NO: 698, SEQ ID NO: 718, SEQ ID NO: 738, SEQ ID NO: 746, SEQ ID NO: 747, SEQ ID NO: 748, SEQ ID NO: 749, SEQ ID NO: 751, SEQ ID NO: 752, SEQ ID NO: 758, SEQ ID NO: 759.

40 Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 126	SEQ ID NO: 246
SEQ ID NO: 127	SEQ ID NO: 247
SEQ ID NO: 128	SEQ ID NO: 248
SEQ ID NO: 129	SEQ ID NO: 249
SEQ ID NO: 131	SEQ ID NO: 251
SEQ ID NO: 132	SEQ ID NO: 252
SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 258
SEQ ID NO: 139	SEQ ID NO: 259
SEQ ID NO: 144	SEQ ID NO: 264

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 145	SEQ ID NO: 265
SEQ ID NO: 147	SEQ ID NO: 267
SEQ ID NO: 148	SEQ ID NO: 268
SEQ ID NO: 149	SEQ ID NO: 269
SEQ ID NO: 226	SEQ ID NO: 346
SEQ ID NO: 227	SEQ ID NO: 347
SEQ ID NO: 228	SEQ ID NO: 348
SEQ ID NO: 229	SEQ ID NO: 349
SEQ ID NO: 231	SEQ ID NO: 351
SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO: 352
SEQ ID NO: 238	SEQ ID NO: 358
SEQ ID NO: 239	SEQ ID NO: 359
SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 258
SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 258
SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 258
SEQ ID NO: 126	SEQ ID NO: 246
SEQ ID NO: 127	SEQ ID NO: 247
SEQ ID NO: 128	SEQ ID NO: 248
SEQ ID NO: 129	SEQ ID NO: 249
SEQ ID NO: 131	SEQ ID NO: 251
SEQ ID NO: 132	SEQ ID NO: 252
SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 258
SEQ ID NO: 139	SEQ ID NO: 259

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

5

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 366	SEQ ID NO: 566
SEQ ID NO: 367	SEQ ID NO: 567
SEQ ID NO: 368	SEQ ID NO: 568
SEQ ID NO: 369	SEQ ID NO: 569
SEQ ID NO: 371	SEQ ID NO: 571
SEQ ID NO: 372	SEQ ID NO: 572
SEQ ID NO: 378	SEQ ID NO: 578
SEQ ID NO: 379	SEQ ID NO: 579
SEQ ID NO: 384	SEQ ID NO: 584
SEQ ID NO: 385	SEQ ID NO: 585
SEQ ID NO: 387	SEQ ID NO: 587
SEQ ID NO: 388	SEQ ID NO: 588
SEQ ID NO: 389	SEQ ID NO: 589

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 466	SEQ ID NO: 666
SEQ ID NO: 467	SEQ ID NO: 667
SEQ ID NO: 468	SEQ ID NO: 668
SEQ ID NO: 469	SEQ ID NO: 669
SEQ ID NO: 471	SEQ ID NO: 671
SEQ ID NO: 472	SEQ ID NO: 672
SEQ ID NO: 478	SEQ ID NO: 678
SEQ ID NO: 479	SEQ ID NO: 679
SEQ ID NO: 498	SEQ ID NO: 698
SEQ ID NO: 518	SEQ ID NO: 718
SEQ ID NO: 538	SEQ ID NO: 738
SEQ ID NO: 546	SEQ ID NO: 746
SEQ ID NO: 547	SEQ ID NO: 747
SEQ ID NO: 548	SEQ ID NO: 748
SEQ ID NO: 549	SEQ ID NO: 749
SEQ ID NO: 551	SEQ ID NO: 751
SEQ ID NO: 552	SEQ ID NO: 752
SEQ ID NO: 558	SEQ ID NO: 758
SEQ ID NO: 559	SEQ ID NO: 759

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

5

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 128	SEQ ID NO: 248
SEQ ID NO: 144	SEQ ID NO: 264
SEQ ID NO: 148	SEQ ID NO: 268
SEQ ID NO: 149	SEQ ID NO: 269
SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 258

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

10

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 368	SEQ ID NO: 568
SEQ ID NO: 384	SEQ ID NO: 584
SEQ ID NO: 388	SEQ ID NO: 588
SEQ ID NO: 389	SEQ ID NO: 589
SEQ ID NO: 538	SEQ ID NO: 738

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

15

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 148	SEQ ID NO: 268
SEQ ID NO: 145	SEQ ID NO: 265
SEQ ID NO: 144	SEQ ID NO: 264
SEQ ID NO: 165	SEQ ID NO: 285
SEQ ID NO: 202	SEQ ID NO: 322

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

5

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 388	SEQ ID NO: 588
SEQ ID NO: 385	SEQ ID NO: 585
SEQ ID NO: 384	SEQ ID NO: 584
SEQ ID NO: 405	SEQ ID NO: 605
SEQ ID NO: 442	SEQ ID NO: 642

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

10

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 762	SEQ ID NO: 772
SEQ ID NO: 763	SEQ ID NO: 773
SEQ ID NO: 764	SEQ ID NO: 774
SEQ ID NO: 765	SEQ ID NO: 775
SEQ ID NO: 766	SEQ ID NO: 776
SEQ ID NO: 767	SEQ ID NO: 777
SEQ ID NO: 768	SEQ ID NO: 778
SEQ ID NO: 769	SEQ ID NO: 779
SEQ ID NO: 770	SEQ ID NO: 780
SEQ ID NO: 771	SEQ ID NO: 781
SEQ ID NO: 782	SEQ ID NO: 773
SEQ ID NO: 783	SEQ ID NO: 775
SEQ ID NO: 784	SEQ ID NO: 777
SEQ ID NO: 785	SEQ ID NO: 779
SEQ ID NO: 786	SEQ ID NO: 781

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

15

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 385	SEQ ID NO: 585
SEQ ID NO: 388	SEQ ID NO: 588
SEQ ID NO: 764	SEQ ID NO: 774

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 765	SEQ ID NO: 775
SEQ ID NO: 766	SEQ ID NO: 776
SEQ ID NO: 767	SEQ ID NO: 777

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

5

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 145	SEQ ID NO: 265
SEQ ID NO: 148	SEQ ID NO: 268

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

10

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 385	SEQ ID NO: 585
SEQ ID NO: 764	SEQ ID NO: 774
SEQ ID NO: 765	SEQ ID NO: 775
SEQ ID NO: 783	SEQ ID NO: 775
SEQ ID NO: 801	SEQ ID NO: 819
SEQ ID NO: 802	SEQ ID NO: 819
SEQ ID NO: 803	SEQ ID NO: 819
SEQ ID NO: 804	SEQ ID NO: 819
SEQ ID NO: 805	SEQ ID NO: 819
SEQ ID NO: 806	SEQ ID NO: 819
SEQ ID NO: 807	SEQ ID NO: 819
SEQ ID NO: 808	SEQ ID NO: 819
SEQ ID NO: 809	SEQ ID NO: 819

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

15

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 388	SEQ ID NO: 588
SEQ ID NO: 766	SEQ ID NO: 776
SEQ ID NO: 767	SEQ ID NO: 777
SEQ ID NO: 810	SEQ ID NO: 820
SEQ ID NO: 811	SEQ ID NO: 820
SEQ ID NO: 812	SEQ ID NO: 820
SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 820
SEQ ID NO: 814	SEQ ID NO: 820
SEQ ID NO: 815	SEQ ID NO: 820
SEQ ID NO: 816	SEQ ID NO: 820

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 817	SEQ ID NO: 820
SEQ ID NO: 818	SEQ ID NO: 820

Un ácido nucleico que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las siguientes primeras y segundas secuencias:

5

Primera cadena modificada	Segunda cadena modificada
SEQ ID NO: 764	SEQ ID NO: 774
SEQ ID NO: 766	SEQ ID NO: 776

Un conjugado para inhibir la expresión del gen diana de ZPI en una célula, comprendiendo dicho conjugado un ácido nucleico como se divulga en la presente memoria y uno o más restos de ligando.

- 10 Una composición farmacéutica que comprende un ácido nucleico como se divulga en la presente memoria, en combinación con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Un ácido nucleico o composición farmacéutica, para su uso en terapia.

- 15 Un ácido nucleico o composición farmacéutica, para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como una enfermedad relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como hemofilia.

Figuras

20

Figura 1: Porciones de conector y ligando de construcciones adecuadas para su uso según la presente invención, incluyendo la ligadura 1a. Aunque la Figura 1 representa el conector que se va a conjugar con un oligonucleótido, se debe entender que la presente invención también abarca conjugados del mismo conector con un oligonucleósido como se divulga en la presente memoria. También debe entenderse que aunque la

25 Figura 1 representa como producto moléculas basadas en las porciones de conector y ligando como se representa específicamente en la Figura 1 unidas a un resto de oligonucleósido como también se representa en la presente memoria, este producto puede comprender además, alternativamente, o consistir esencialmente en, moléculas en donde las porciones de conector y ligando son esencialmente como se representa en la Figura 1 unidas a un resto de oligonucleósido, pero que tienen el sustituyente F como se muestra en la Figura 1 en el anillo de ciclooctilo reemplazado por un sustituyente que ocurre como resultado del desplazamiento hidrolítico, tal como un sustituyente OH. De esta manera, (a) las construcciones de la ligadura 1a pueden consistir esencialmente en moléculas que tienen porciones de conector y ligando específicamente como se representa en la Figura 1, con un sustituyente F en el anillo de ciclooctilo; o (b) las construcciones de la ligadura 1a pueden consistir esencialmente en moléculas que tienen porciones de conector y ligando esencialmente como se

35 representa en la Figura 1, pero que tienen el sustituyente F como se muestra en la Figura 1 en el anillo de ciclooctilo reemplazado por un sustituyente que ocurre como resultado del desplazamiento hidrolítico, tal como un sustituyente OH, o (c) las construcciones de la ligadura 1a pueden comprender una mezcla de moléculas como se define en (a) y/o (b).

- 40 Figura 2: Porciones de conector y ligando de construcciones adecuadas para su uso según la presente invención, incluyendo la ligadura 1b. Aunque la Figura 2 representa el conector que se va a conjugar con un oligonucleótido, se debe entender que la presente invención también abarca conjugados del mismo conector con un oligonucleósido como se divulga en la presente memoria. Los comentarios realizados en relación con la Figura 1 y el posible reemplazo del sustituyente F como se muestra en la Figura 1 en el anillo de ciclooctilo reemplazado por un sustituyente que ocurre como resultado del desplazamiento hidrolítico, tal como un sustituyente OH, se aplican igualmente a las construcciones de la ligadura 1b. De esta manera, (a) las construcciones de la ligadura 1b pueden consistir esencialmente en moléculas que tienen porciones de conector y ligando específicamente como se representa en la Figura 2, con un sustituyente F en el anillo de ciclooctilo; o (b) las construcciones de la ligadura 1b pueden consistir esencialmente en moléculas que tienen
- 45 porciones de conector y ligando esencialmente como se representa en la Figura 2, pero que tienen el sustituyente F como se muestra en la Figura 2 en el anillo de ciclooctilo reemplazado por un sustituyente que ocurre como resultado del desplazamiento hidrolítico, tal como un sustituyente OH, o (c) las construcciones de la ligadura 1b pueden comprender una mezcla de moléculas como se define en (a) y/o (b).

- 55 Figura 3: Porciones de conector y ligando de construcciones adecuadas para su uso según la presente invención, incluyendo la ligadura 2a. Aunque la Figura 3 representa el conector que se va a conjugar con un

oligonucleótido, se debe entender que la presente invención también abarca conjugados del mismo conector con un oligonucleósido como se divulga en la presente memoria.

Figura 4: Porciones de conector y ligando de construcciones adecuadas para su uso según la presente invención, incluyendo la ligadura 2b. Aunque la Figura 4 representa el conector que se va a conjugar con un oligonucleótido, se debe entender que la presente invención también abarca conjugados del mismo conector con un oligonucleósido como se divulga en la presente memoria.

Figura 5: Fórmulas descritas en las Frases 1-101 divulgadas en la presente memoria.

Figura 6: Fórmulas descritas en las Cláusulas 1-56 divulgadas en la presente memoria

Figuras 7a y 7b: Construcciones abásicas invertidas que pueden usarse con secuencias de ácido nucleico según la presente invención como se describe en la presente memoria. Para la Figura 7a, un conector galnac se une a la región del extremo 5' de la cadena con sentido en uso (no representada en la Figura 7a). Para la Figura 7b, un conector galnac se une a la región del extremo 3' de la cadena con sentido en uso (no representada en la Figura 7b).

iaia como se muestra en la región del extremo 3' de la cadena con sentido en la Figura 7a representa (i) dos nucleósidos abásicos proporcionados como los nucleósidos penúltimo y terminal en la región del extremo 3' de la cadena con sentido, (ii) en donde se proporciona un enlace inverso 3'-3' entre el nucleósido antepenúltimo (es decir, en la posición 21 de la cadena con sentido, en donde la posición 1 es el nucleósido 5' terminal de la cadena con sentido) y el penúltimo residuo abásico adyacente de la cadena con sentido, y (iii) el enlace entre los nucleósidos abásicos terminal y penúltimo es 5'-3' cuando se lee hacia la región del extremo 3' que comprende los nucleósidos abásicos terminal y penúltimo.

iaia como se muestra en la región del extremo 5' de la cadena con sentido en la Figura 7b representa (i) dos nucleósidos abásicos proporcionados como los nucleósidos penúltimo y terminal en la región del extremo 5' de la cadena con sentido, (ii) en donde se proporciona un enlace inverso 5'-5' entre el nucleósido antepenúltimo (es decir, en la posición 1 de la cadena con sentido, que no incluye el resto iaia en la región del extremo 5' de la cadena con sentido en la numeración de la posición del nucleósido en la cadena con sentido) y el penúltimo residuo abásico adyacente de la cadena con sentido, y (iii) el enlace entre los nucleósidos abásicos terminal y penúltimo es 3'-5' cuando se lee hacia la región del extremo 5' que comprende los nucleósidos abásicos terminal y penúltimo.

Figuras 8a y 8b: Construcciones dúplex según la Tabla 5.

Figura 9: Resultados de experimentos de respuesta a la dosis para la inhibición de la expresión del ARNm de ZPI en células Huh7 humanas. Los puntos representan la expresión relativa media del ARNm de ZPI en comparación con los pocillos sin tratar después del tratamiento con la construcción de ARNsi a las concentraciones indicadas en el eje x. Las barras de error representan la desviación estándar de la media. Las curvas punteadas representan intervalos de confianza del 95 %. Las líneas punteadas y las áreas sombreadas representan la expresión relativa media +/- desviación estándar de los pocillos no tratados en la misma placa.

Figura 10: Cambio en la expresión del ARNm de ZPI en el hígado a lo largo del tiempo después de la administración subcutánea de ARNsi conjugados con GalNAc en ratones C57BL/6. Se murinizaron ETXM1180, 1188 y 1192 para este ensayo como se describe en el Ejemplo 11. Los datos son media +/- desviación estándar, n=3 ratones por punto de tiempo.

Figura 11: Cambio en la expresión de ARNm de ZPI en el hígado a lo largo del tiempo después de la administración subcutánea de ARNsi conjugados con GalNAc en ratones C57BL/6. Se murinizaron ETXM1181, 1189 y 1193 para este ensayo como se describe en el Ejemplo 11. Los datos son media +/- desviación estándar, n=3 ratones por punto de tiempo.

Figura 12: Puntuación visual de sangrado de ratones en tres grupos de tratamiento diferentes (grupo de control de tipo salvaje, ratones Haem A que recibieron un vehículo (solución salina al 0,9 %) y ratones Haem A que recibieron la construcción GalNAc-ARNsi ETXM1184) 3 días (Fig. 10A) y 10 días (Fig. 10B) después de la lesión. La definición de las puntuaciones de sangrado se proporciona a continuación.

Figura 13: (A) Comparación de los diámetros de rodilla en los días 3 y 10 después de la lesión de ratones en tres grupos de tratamiento diferentes (grupo de control de tipo salvaje, ratones Haem A que recibieron vehículo (solución salina al 0,9 %) y ratones Haem A que recibieron la construcción GalNAc-ARNsi ETXM1184). (B) Comparación del diámetro de rodilla desollada el día 10 después de la lesión de ratones en los mismos tres grupos de tratamiento.

Figura 14: Comparación de la gravedad de (A) hiperplasia de la médula ósea, (B) osteoartritis, (C)

degeneración/necrosis de condrocitos, (D) hemorragia, (E) deposición de hemosiderina, (F) hematoma, (G) resorción ósea osteoclastogénica, (H) osteólisis, (I) periostitis, (J) esclerosis ósea subcondral, (K) degeneración de tendones, (L) tendinitis y (M) tenosinovitis (Fig. 12M) en ratones en tres grupos de tratamiento diferentes (grupo de control de tipo salvaje, ratones Haem A que recibieron vehículo (solución salina al 0,9%) y ratones Haem A que recibieron la construcción de GalNAc-ARNsi ETXM1184).

Figura 15: Protección articular: Varios puntos finales documentan un efecto de respuesta a la dosis. La administración profiláctica de ETXM1184 muestra una protección dependiente de la dosis en lecturas de tejido clave a los 10 días después de la lesión. ETXM1184 muestra eficacia en el mismo rango que los comparadores clínicos: terapia de reemplazo de FVIII como estándar de oro para tratamientos de emergencia (Advate) y agente reequilibrante basado en ARNsi para profilaxis que demostró buena protección de sangrado en el desarrollo clínico en estadio tardío (fitusiran). * Escala: 0 = normal; 1 = mínimo; 2 = moderado; 3 = marcado; 4 = grave. [1] Glasson et al., Osteoarthritis Cartilage. oct 2010; 18 Supl 3: S17-23. doi: 10.1016/j.joca.2010.05.025. PMID: 20864019.

Figura 16: La puntuación histopatología compuesta de hemartrosis cuantifica: tendinitis, degeneración de tendones, tenosinovitis, periostitis, osteólisis, resorción ósea osteoclastica, hemorragia, hematoma, deposición de hemosiderina, necrosis de condrocitos, grado OARSI de cartilago, esclerosis ósea subcondral e hiperplasia de la médula ósea. ETX-148 muestra un efecto significativo de respuesta a la dosis (modelo lineal bayesiano ajustado a la puntuación compuesta). Reducción media de la puntuación compuesta en comparación con el control: -1,25 para el grupo de 10 mg/kg de ETXM1184 (nivel de significación equivalente a $p < 0,01$); -0,91 para el grupo de 3 mg/kg de ETXM1184 (nivel de significación equivalente a $p < 0,05$). El comparador fitusiran muestra la reducción media de -1,04 para el grupo de 3 mg/kg (nivel de significación equivalente a $p < 0,05$).

Figura 17: La administración profiláctica de ETXM1184 mejora la patología articular de la hemartrosis en ratones con hemofilia A. La administración de 3 mg/kg de ETXM1184 dio como resultado una patología mejorada de la articulación de rodilla con hemartrosis, una inflamación reducida y dio como resultado áreas más pequeñas de hemorragia.

Figura 18: La administración profiláctica de ETXM1184 reduce el sangrado posterior a la lesión en ratones con hemofilia A (puntuación de sangrado visual (VBS) en vivo). Se introdujo un evento de sangrado en la articulación de la rodilla de ratones con hemofilia A 8 días después de la administración de ARNsi. Se monitorizó el sangrado durante 10 días después de la lesión y se realizó un análisis histológico terminal. La administración profiláctica de una única dosis de 10 mg/kg de ETXM1184 redujo eficazmente la puntuación visual de sangrado (VBS) en comparación con el reemplazo del Factor VIII (Advate) 10 días después de la lesión.

Figura 19: La administración profiláctica de ETXM1184 reduce el sangrado posterior a la lesión en la articulación de la rodilla de ratones con hemofilia A (medición en vivo del diámetro de la rodilla lesionada en comparación con el diámetro de la rodilla no lesionada). Se introdujo un evento de sangrado en la articulación de la rodilla de ratones con hemofilia A 8 días después de la administración de ARNsi. Se monitorizó el sangrado durante 10 días después de la lesión y se realizó un análisis histológico terminal. El ETXM1184 profiláctico administrado como una única dosis de 10 mg/kg redujo eficazmente la acumulación de sangre en la articulación de la rodilla en comparación con el reemplazo del Factor VIII (Advate) 10 días después de la lesión.

Figura 20: La administración profiláctica de ETXM1184 reduce la hemartrosis en un modelo de ratón con hemofilia A (mediciones terminales tomadas 18 días después de la dosificación de ARNsi y 10 días después de la lesión). El ETXM1184 profiláctico administrado como una única dosis de 10 mg/kg redujo eficazmente el sangrado articular y las características de la artropatía hemofílica en comparación con el reemplazo del Factor VIII (Advate) 10 días después de la lesión.

Figura 21: Inhibición de la expresión de ZPI por ETXM1184 (ETXS1036 y ETXS1035), ETXM1199 (ETXS2398 y ETXS2397), ETXM1200 (ETXS2400 y ETXS2397), ETXM1201 (ETXS2402 y ETXS2397), ETXM1202 (ETXS2404 y ETXS2397), ETXM1203 (ETXS2406 y ETXS2397), ETXM 1204 (ETXS2408 y ETXS2397), ETXM 1205 (ETXS2410 y ETXS2397), ETXM1206 (ETXS2412 y ETXS2397) y ETXM1207 (ETXS2414 y ETXS2397).

Definiciones

La "primera cadena", también denominada la cadena antisentido o cadena guía en la presente memoria y que puede usarse indistintamente en la presente memoria, se refiere a la cadena de ácido nucleico, por ejemplo, la cadena de un ARNsi, por ejemplo, un ARNdsi, que incluye una región que es sustancialmente complementaria a una secuencia diana, por ejemplo, a un ARNm. Como se usa en la presente memoria, el término "región de complementariedad" se refiere a la región en la cadena antisentido que es sustancialmente complementaria a una secuencia, por ejemplo, una secuencia diana. Cuando la región de complementariedad no es totalmente complementaria a la secuencia diana, los emparejamientos erróneos pueden estar típicamente en las regiones internas o terminales de la molécula. En algunas realizaciones, un ácido nucleico bicatenario, por ejemplo, un agente de ARNsi de la invención incluye un emparejamiento erróneo de nucleósidos en la cadena antisentido.

La "segunda cadena" (también denominada cadena con sentido o cadena pasajera en la presente memoria, y que puede usarse indistintamente en la presente memoria), se refiere a la cadena de un ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi que incluye una región que es sustancialmente complementaria a una región de la cadena antisentido, tal como se define este término en la presente memoria.

En el contexto de una molécula que comprende un ácido nucleico provisto de un resto de ligando, opcionalmente también con un resto conector, el ácido nucleico de la invención puede denominarse un oligonucleósido o un resto de oligonucleósido.

Los oligonucleótidos son polímeros de ácido nucleico cortos. Aunque los oligonucleótidos contienen enlaces fosfodiéster entre el componente nucleósido de los mismos (base más azúcar), la presente invención no se limita a oligonucleótidos siempre unidos por dicho enlace fosfodiéster entre nucleósidos adyacentes, y se contemplan otros oligómeros de nucleósidos unidos por enlaces que son enlaces distintos de un enlace fosfodiéster. Por ejemplo, un enlace entre nucleósidos puede ser un enlace fosforotioato. Por lo tanto, el término "oligonucleósido", tal como se utiliza en la presente memoria, abarca oligonucleótidos, así como otros oligómeros de nucleósidos. Se prefiere un oligonucleósido que es un ácido nucleico que tiene al menos una parte que es un oligonucleótido según la presente invención. También se prefiere según la presente invención un oligonucleósido que tiene uno o más, o una mayoría de, enlaces de estructura fosfodiéster entre nucleósidos. También se prefiere según la presente invención un oligonucleósido que tiene uno o más, o una mayoría de, enlaces de estructura fosfodiéster entre nucleósidos, y que también tiene uno o más enlaces de cadena principal fosforotioato entre nucleósidos (típicamente en una región terminal de la primera y/o segunda cadena).

En la presente memoria se prefiere que el ácido nucleico según la invención sea un oligonucleósido bicatenario que comprenda uno o más enlaces de cadena principal fosforotioato entre nucleósidos. Por consiguiente, en todos los casos en donde la presente solicitud se refiere a un oligonucleótido, particularmente en las estructuras químicas divulgadas en la presente memoria, el oligonucleótido puede ser igualmente un oligonucleósido como se define en la presente memoria.

En algunas realizaciones, un ácido nucleico bicatenario, por ejemplo, un agente de ARNsi de la invención incluye un emparejamiento erróneo de nucleósidos en la cadena con sentido. En algunas realizaciones, el emparejamiento erróneo de nucleósidos está, por ejemplo, dentro de 5, 4, 3, 2 o 1 nucleósidos desde el extremo 3' del ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi.

En otra realización, el emparejamiento erróneo de nucleósidos está, por ejemplo, en el nucleósido 3'-terminal del ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi.

Una "secuencia diana" (que también puede denominarse ARN diana o ARNm diana) se refiere a una porción contigua de la secuencia de nucleósidos de una molécula de ARNm formada durante la transcripción de un gen, incluyendo ARNm que es un producto del procesamiento de ARN de un producto de transcripción primario.

La secuencia diana puede tener una longitud de aproximadamente 10-35 nucleósidos, por ejemplo, una longitud de aproximadamente 15-30 nucleósidos. Por ejemplo, la secuencia diana puede tener una longitud de aproximadamente 15-30 nucleósidos, 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-22, 15-21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 o 21-22. Los rangos y longitudes intermedias a los rangos y longitudes citadas anteriormente también se contemplan como parte de la divulgación.

El término "ribonucleósido" o "nucleósido" también puede referirse a un nucleósido modificado, como se detalla adicionalmente a continuación.

Un ácido nucleico puede ser un ADN o un ARN, y puede comprender nucleósidos modificados. El ARN es un ácido nucleico preferido.

Los términos "ARNi", "ARNsi", "agente de ARNi" y "agente de ARNi", "agente de interferencia de ARN" como se usan indistintamente en la presente memoria, se refieren a un agente que contiene ARN, y que media la escisión dirigida de un transcrito de ARN a través de una ruta de complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC). El ARNsi dirige la degradación específica de secuencia de ARNm a través de un ARN de interferencia (ARNi).

Un ARN bicatenario se denomina en la presente memoria "agente de ARNsi bicatenario (ARNdsi)", "molécula de ARNsi bicatenario (ARNdsi)", "agente de ARN bicatenario (ARNds)", "molécula de ARN bicatenario (ARNds)", "agente de ARNdsi", "molécula de ARNdsi" o "ARNdsi", que se refiere a un complejo de moléculas de ácido ribonucleico, que tiene una estructura dúplex que comprende dos cadenas de ácido nucleico

antiparalelas y sustancialmente complementarias, a las que se hace referencia como que tienen orientaciones "con sentido" y "antisentido" con respecto a un ARN diana.

La mayoría de los nucleósidos de cada cadena del ácido nucleico, por ejemplo, una molécula de ARNdsi, son preferiblemente ribonucleósidos, pero en ese caso cada una o ambas cadenas también pueden incluir uno o más no ribonucleósidos, por ejemplo, un desoxirribonucleósido o un nucleósido modificado. Además, como se usa en esta memoria descriptiva, un "ARNsi" puede incluir ribonucleósidos con modificaciones químicas.

El término "nucleósido modificado" se refiere a un nucleósido que tiene, independientemente, un resto de azúcar modificado, un enlace internucleosídico modificado o una nucleobase modificada, o cualquier combinación de los mismos. Por tanto, el término nucleósido modificado abarca sustituciones, adiciones o eliminación de, por ejemplo, un grupo o átomo funcional, a enlaces internucleosídicos, restos de azúcar o nucleobases. Cualquiera de tales modificaciones, como se usa en una molécula de tipo ARNsi, están englobadas por "ARNi" o "agente de ARNi" o "ARNsi" o "agente de ARNsi" para los fines de esta memoria descriptiva y reivindicaciones.

Las dos cadenas que forman la estructura dúplex pueden ser porciones diferentes de una molécula más grande, o pueden ser moléculas separadas, por ejemplo, moléculas de ARN.

El término "protuberancia de nucleósidos" se refiere a al menos un nucleósido no emparejado que se extiende desde la estructura dúplex de un ácido nucleico según la presente invención. Un ácido nucleico según la presente invención puede comprender una protuberancia de al menos un nucleósido; alternatively, la protuberancia puede comprender al menos dos nucleósidos, al menos tres nucleósidos, al menos cuatro nucleósidos, al menos cinco nucleósidos o más. Una protuberancia de nucleósidos puede comprender o consistir en un nucleósido/análogo de nucleósido, incluyendo un desoxinucleósido. La o las protuberancias pueden estar en la cadena con sentido, la cadena antisentido o cualquier combinación de las mismas. Además, el o los nucleósidos de una protuberancia pueden estar presente en el extremo 5', en el extremo 3', o en ambos extremos de una cadena antisentido o con sentido.

En ciertas realizaciones, la cadena antisentido tiene una protuberancia de 1-10 nucleósidos, por ejemplo, 0-3, 1-3, 2-4, 2-5, 4-10, 5-10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleósidos, en el extremo 3' o el extremo 5'.

"Romo" o "extremo romo" significa que no hay nucleósidos no emparejados en ese extremo del ácido nucleico bicatenario, es decir, ninguna protuberancia de nucleósidos. Los ácidos nucleicos de la invención incluyen aquellos sin protuberancia de nucleósidos en un extremo o sin protuberancias de nucleósidos en cualquier extremo.

A menos que se indique lo contrario, el término "complementaria", cuando se usa para describir una primera secuencia de nucleósidos en relación con una segunda secuencia de nucleósidos, se refiere a la capacidad de un oligonucleósido que comprende la primera secuencia de nucleósidos para hibridarse y formar una estructura dúplex en ciertas condiciones con un oligonucleósido que comprende la segunda secuencia de nucleósidos, como entenderá el experto en la técnica. Tales condiciones pueden ser, por ejemplo, condiciones astringentes, donde las condiciones astringentes pueden incluir: NaCl 400 mM, PIPES 40 mM pH 6,4, EDTA 1 mM, 50 °C o 70 °C durante 12-16 horas seguido de lavado (véase, por ejemplo, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press).

Las secuencias complementarias en el ácido nucleico, por ejemplo, un ARNdsi, como se describe en la presente memoria, incluyen el emparejamiento de bases del oligonucleósido que comprende una primera secuencia de nucleósidos con un oligonucleósido que comprende una segunda secuencia de nucleósidos a lo largo de la longitud completa de una o ambas secuencias de nucleósidos. Tales secuencias pueden denominarse "totalmente complementarias" entre sí en la presente memoria. Sin embargo, cuando una primera secuencia se denomina "sustancialmente complementaria" o "parcialmente complementaria" con respecto a una segunda secuencia en la presente memoria, las dos secuencias pueden ser completamente complementarias, o pueden formar uno o más pares de bases con emparejamiento erróneo, tales como 2, 4 o 5 pares de bases con emparejamiento erróneo, pero preferiblemente no más de 5, mientras retienen la capacidad de hibridarse en las condiciones más relevantes para su aplicación final, por ejemplo, inhibición de la expresión génica a través de una ruta RISC. Las protuberancias no se considerarán como con emparejamientos erróneos con respecto a la determinación de la complementariedad. Por ejemplo, un ácido nucleico, por ejemplo, ARNdsi que comprende un oligonucleósido de 17 nucleósidos de longitud y otro oligonucleósido de 19 nucleósidos de longitud, en donde el oligonucleósido más largo comprende una secuencia de 17 nucleósidos que es totalmente complementaria al oligonucleósido más corto, puede aún denominarse "totalmente complementario".

Las secuencias "complementarias", como se usa en la presente memoria, también pueden incluir, o formarse completamente a partir de, pares de bases no de Watson-Crick o pares de bases formados a partir de nucleósidos no naturales y modificados, en la medida en que se cumplan los requisitos anteriores con respecto

a su capacidad de hibridarse. Tales pares de bases no de Watson-Crick incluyen, pero no se limitan a, emparejamiento de bases de G:U de Wobble o Hoogsteen.

Los términos "complementaria", "totalmente complementaria" y "sustancialmente/parcialmente complementaria" en la presente memoria se pueden usar con respecto a la coincidencia de bases entre la cadena con sentido y la cadena antisentido de un ácido nucleico, por ejemplo, ARNdsi, o entre la cadena antisentido de un ácido nucleico bicatenario, por ejemplo, un agente de ARNsi y una secuencia diana.

En la presente invención, la segunda cadena del ácido nucleico según la invención, en particular un ARNdsi para inhibir ZPI, es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena de dicho ácido nucleico. En ciertas realizaciones, una primera y segunda cadena de un ácido nucleico según la invención son parcialmente complementarias si forman una región dúplex que tiene una longitud de al menos 17 pares de bases y que comprende no más de 1, 2, 3, 4 o 5 pares de bases con emparejamiento erróneo.

En ciertas realizaciones, una primera y segunda cadena del ácido nucleico según la invención son parcialmente complementarias si forman una región dúplex que tiene una longitud de 19 pares de bases y que comprende no más de 1, 2, 3, 4 o 5 pares de bases con emparejamiento erróneo. En ciertas realizaciones, una primera y segunda cadena del ácido nucleico según la invención son parcialmente complementarias si forman una región dúplex que tiene una longitud de 21 pares de bases que comprende no más de 1, 2, 3, 4 o 5 pares de bases con emparejamiento erróneo.

Alternativamente, una primera y segunda cadena del ácido nucleico según la invención son parcialmente complementarias si forman una región dúplex que tiene una longitud de al menos 17 pares de bases, en donde al menos 14, 15, 16 o 17 de dichos pares de bases son pares de bases complementarios, en particular pares de bases de Watson-Crick.

En ciertas realizaciones, una primera y segunda cadena del ácido nucleico según la invención son parcialmente complementarias si forman una región dúplex que tiene una longitud de 19 pares de bases, en donde al menos 14, 15, 16, 17, 18 o los 19 pares de bases son pares de bases complementarios, en particular pares de bases de Watson-Crick. En ciertas realizaciones, una primera y segunda cadena del ácido nucleico según la invención son parcialmente complementarias si forman una región dúplex que tiene una longitud de 21 pares de bases, en donde al menos 16, 17, 18, 19, 20 o todos los 21 pares de bases son pares de bases complementarios, en particular pares de bases de Watson-Crick.

Como se usa en la presente memoria, un ácido nucleico que es "sustancialmente complementario" o "parcialmente complementario" a al menos parte de un ARN mensajero (ARNm) se refiere a un ácido nucleico que es sustancial o parcialmente complementario a una porción contigua del ARNm de interés (por ejemplo, un ARNm que codifica un gen). En ciertas realizaciones, la porción contigua del ARNm es una secuencia como se enumera en la Tabla 1, es decir, una cualquiera de las SEQ ID NO: 2-121. Por ejemplo, un ácido nucleico es complementario a al menos una parte de un ARNm de un gen de interés si la secuencia es sustancial o parcialmente complementaria a una porción no interrumpida de un ARNm que codifica ese gen.

Por consiguiente, en algunas realizaciones preferidas, los oligonucleósidos antisentido como se divulgan en la presente memoria son totalmente complementarios a la secuencia génica diana.

En otras realizaciones, los oligonucleósidos antisentido divulgados en la presente memoria son sustancial o parcialmente complementarios a una secuencia de ARN diana y comprenden una secuencia de nucleósidos contigua que es al menos aproximadamente un 80 % complementaria en toda su longitud a la región equivalente de la secuencia de ARN diana, tal como al menos aproximadamente un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % complementaria o un 100 % complementaria.

En ciertas realizaciones, la primera cadena (antisentido) de un ácido nucleico según la invención es parcial o totalmente complementaria a una porción contigua de ARN transcrito a partir del gen ZPI. En ciertas realizaciones, la primera cadena del ácido nucleico según la invención es parcial o totalmente complementaria a una porción contigua de al menos 17 nucleósidos del ARNm de ZPI. En ciertas realizaciones, la primera cadena del ácido nucleico según la invención es parcial o totalmente complementaria a una porción contigua de 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 nucleósidos del ARNm de ZPI. En ciertas realizaciones, la primera cadena del ácido nucleico según la invención es parcial o totalmente complementaria a una porción contigua de 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 nucleósidos de una cualquiera de las secuencias enumeradas en la Tabla 1, es decir, una cualquiera de las SEQ ID NO: 2-121.

En ciertas realizaciones, la primera cadena (antisentido) del ácido nucleico según la invención es parcialmente complementaria a una porción contigua del ARNm de ZPI si comprende una secuencia de nucleósidos contiguos de al menos 17 nucleósidos, en donde al menos 14, 15, 16 o 17 nucleósidos de dicha secuencia de nucleósidos contiguos son complementarios a una porción contigua del ARNm de ZPI. En ciertas realizaciones,

la primera cadena del ácido nucleico según la invención comprende una secuencia de nucleósidos contiguos de al menos 17 nucleósidos, en donde al menos 14, 15, 16 o 17 nucleósidos de dicha secuencia de nucleósidos contiguos son complementarios a una porción contigua de una cualquiera de las secuencias enumeradas en la Tabla 1, es decir, una cualquiera de las SEQ ID NO: 2-121. En ciertas realizaciones, la primera cadena del ácido nucleico según la invención comprende una secuencia de nucleósidos contiguos de 19 nucleósidos, en donde al menos 14, 15, 16, 17, 18 o los 19 nucleósidos de dicha secuencia de nucleósidos contiguos son complementarios a una porción contigua de una cualquiera de las secuencias enumeradas en la Tabla 1, es decir, una cualquiera de las SEQ ID NO: 2-121. En ciertas realizaciones, la primera cadena del ácido nucleico según la invención comprende una secuencia de nucleósidos contiguos de 23 nucleósidos, en donde al menos 18, 19, 20, 21, 22 o los 23 nucleósidos de dicha secuencia de nucleósidos contiguos son complementarios a una porción contigua de una cualquiera de las secuencias enumeradas en la Tabla 1, es decir, una cualquiera de las SEQ ID NO: 2-101.

En algunas realizaciones, un ácido nucleico, por ejemplo, un ARNsi de la invención incluye una cadena con sentido que es sustancial o parcialmente complementaria a un oligonucleósido antisentido que, a su vez, es complementario a una secuencia génica diana y comprende una secuencia de nucleósidos contiguos. La secuencia de nucleósidos de la cadena con sentido es típicamente al menos aproximadamente un 80 % complementaria a lo largo de toda su longitud a la región equivalente de la secuencia de nucleósidos de la cadena antisentido, tal como aproximadamente un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % complementaria, o un 100 % complementaria.

En algunas realizaciones, un ácido nucleico, por ejemplo, un ARNsi de la invención incluye una cadena antisentido que es sustancial o parcialmente complementaria a la secuencia diana y comprende una secuencia de nucleósidos contiguos que es al menos un 80 % complementaria en toda su longitud a la secuencia diana, tal como aproximadamente un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % complementaria, o un 100 % complementaria.

Como se usa en la presente memoria, un "sujeto" es un animal, tal como un mamífero, incluyendo un primate (tal como un ser humano, un primate no humano, por ejemplo, un mono y un chimpancé), o un no primate o un ave que expresa el gen diana, ya sea de manera endógena o heteróloga, cuando la secuencia del gen diana tiene suficiente complementariedad con el ácido nucleico, por ejemplo, un agente de ARNsi para promover la inactivación de la diana. En ciertas realizaciones preferidas, el sujeto es un ser humano.

Los términos "tratar" o "tratamiento" se refieren a un resultado beneficioso o deseado que incluye, pero no se limita a, alivio o mejora de uno o más síntomas asociados con la expresión génica. El "tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada en ausencia de tratamiento. El tratamiento puede incluir la prevención del desarrollo de comorbilidades, por ejemplo, daño hepático reducido en un sujeto con una infección hepática.

"Cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en la presente memoria, pretende incluir la cantidad de un ácido nucleico, por ejemplo, un ARNsi que, cuando se administra a un paciente para tratar a un sujeto que tiene una enfermedad, es suficiente para efectuar el tratamiento de la enfermedad (por ejemplo, disminuyendo, mejorando o manteniendo la enfermedad existente o uno o más síntomas de la enfermedad o sus comorbilidades relacionadas).

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente memoria para referirse a compuestos, materiales, composiciones o formas de dosificación que son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de sujetos humanos y sujetos animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, en consonancia con una relación beneficio/riesgo razonable.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" como se usa en la presente memoria significa un material, composición o portador farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, coadyuvante de fabricación o material de encapsulación de disolvente, implicado en portar o transportar el compuesto objeto desde un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano, o parte del cuerpo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el sujeto que se está tratando.

Cuando se enumeran un valor o rango de valores de un parámetro, se pretende que los valores y rangos intermedios a los valores enumerados también se pretende que sean parte de esta invención.

Los artículos "un" y "una" se usan en la presente memoria para referirse a uno o a más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo.

El término "que incluye" se usa en la presente memoria para significar, y se usa indistintamente con, la frase "que incluye, pero no se limita a".

El término "o" se usa en la presente memoria para significar, y se usa indistintamente con, el término "y/o", a

menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, "cadena con sentido o cadena antisentido" se entiende como "cadena con sentido o cadena antisentido o cadena con sentido y cadena antisentido".

5 El término "aproximadamente" se usa en la presente memoria para significar dentro de los rangos típicos de tolerancias en la técnica. Por ejemplo, "aproximadamente" puede entenderse como aproximadamente 2 desviaciones estándar de la media. En ciertas realizaciones, aproximadamente significa +10 %. En ciertas realizaciones, aproximadamente significa +5 %. Cuando aproximadamente está presente antes de una serie de números o un rango, se entiende que "aproximadamente" puede modificar cada uno de los números en la serie o rango.

10 Se entiende que el término "al menos" antes de un número o serie de números incluye el número adyacente al término "al menos", y todos los números o números enteros posteriores que podrían incluirse lógicamente, como queda claro a partir del contexto. Por ejemplo, el número de nucleósidos en una molécula de ácido nucleico debe ser un número entero. Por ejemplo, "al menos 18 nucleósidos de una molécula de ácido nucleico de 21 nucleósidos" significa que 18, 19, 20 o 21 nucleósidos tienen la propiedad indicada. Cuando al menos está presente antes de una serie de números o un rango, se entiende que "al menos" puede modificar cada uno de los números en la serie o rango.

20 Como se usa en la presente memoria, "no más de" o "menos de" se entiende como el valor adyacente a la frase y los valores o números enteros lógicos inferiores, como lógicos a partir del contexto, a cero. Por ejemplo, un dúplex con una protuberancia de "no más de 2 nucleósidos" tiene una protuberancia de 2, 1 o 0 nucleósidos. Cuando "no más de" está presente antes de una serie de números o un rango, se entiende que "no más de" puede modificar cada uno de los números en la serie o rango.

25 La región terminal de una cadena es los últimos 5 nucleósidos del extremo 5' o 3'.

Diversas realizaciones de la invención pueden combinarse según lo determine como apropiado un experto en la técnica.

30 **Nucleósidos abásicos**

En ciertas realizaciones, hay 1, por ejemplo 2, por ejemplo 3, por ejemplo 4 o más nucleósidos abásicos presentes en los ácidos nucleicos según la presente invención. Los nucleósidos abásicos son nucleósidos modificados porque carecen de la base observada normalmente en la posición 1 del resto de azúcar. Típicamente, habrá un hidrógeno en la posición 1 del resto de azúcar de los nucleósidos abásicos presentes en un ácido nucleico según la presente invención.

40 Los nucleósidos abásicos están en la región terminal de la segunda cadena, preferiblemente localizados dentro de los 5 nucleósidos terminales del extremo de la cadena. La región terminal puede ser los 5 nucleósidos terminales, que incluyen nucleósidos abásicos.

La segunda cadena puede comprender, como características preferidas (que se contemplan todas específicamente en combinación, a menos que sean mutuamente excluyentes):

45 2, o más de 2, nucleósidos abásicos en una región terminal de la segunda cadena; y/o

2, o más de 2, nucleósidos abásicos bien en la región 5' o 3' terminal de la segunda cadena; y/o

50 2, o más de 2, nucleósidos abásicos bien en la región 5' o 3' terminal de la segunda cadena, en donde los nucleósidos abásicos están presentes en una protuberancia como se describe en la presente memoria; y/o

2, o más de 2, nucleósidos abásicos consecutivos en una región terminal de la segunda cadena, en donde preferiblemente uno de tales nucleósidos abásicos es un nucleósido terminal; y/o

55 2, o más de 2, nucleósidos abásicos consecutivos bien en la región 5' o 3' terminal de la segunda cadena, en donde preferiblemente uno de tales nucleósidos abásicos es un nucleósido terminal bien en la región 5' o 3' terminal de la segunda cadena; y/o

60 un enlace internucleosídico inverso conecta al menos un nucleósido abásico a un nucleósido básico adyacente en una región terminal de la segunda cadena; y/o

un enlace internucleosídico inverso conecta al menos un nucleósido abásico a un nucleósido básico adyacente bien en la región 5' o 3' terminal de la segunda cadena; y/o

65 un nucleósido abásico como penúltimo nucleósido que está conectado a través del enlace inverso al nucleósido que no es el nucleósido terminal (denominado el nucleósido antepenúltimo en la presente memoria); y/o

los nucleósidos abásicos como los 2 nucleósidos terminales conectados a través de un enlace 5'-3' cuando se lee la cadena en la dirección hacia el extremo que comprende los nucleósidos terminales;

- 5 los nucleósidos abásicos como los 2 nucleósidos terminales conectados a través de un enlace 3'-5' cuando se lee la cadena en la dirección hacia el extremo que comprende los nucleósidos terminales;

- 10 los nucleósidos abásicos como 2 posiciones terminales, en donde el penúltimo nucleósido está conectado a través del enlace inverso al nucleósido antepenúltimo, y en donde el enlace inverso es un enlace inverso 5-5' o un enlace inverso 3'-3';

los nucleósidos abásicos como las 2 posiciones terminales, en donde el penúltimo nucleósido está conectado a través del enlace inverso al nucleósido antepenúltimo, y en donde

- 15 (1) el enlace inverso es un enlace inverso 5-5' y el enlace entre los nucleósidos abásicos terminales y penúltimos es 3'5' cuando se lee hacia el extremo que comprende los nucleósidos abásicos terminales y penúltimos; o

- 20 (2) el enlace inverso es un enlace inverso 3-3' y el enlace entre los nucleósidos abásicos terminales y penúltimos es 5'3' cuando se lee hacia el extremo que comprende los nucleósidos abásicos terminales y penúltimos.

Preferiblemente, hay un nucleósido abásico en el extremo de la segunda cadena.

- 25 Preferiblemente, hay 2 o al menos 2 nucleósidos abásicos en la región terminal de la segunda cadena, preferiblemente en las posiciones terminal y penúltima.

- 30 Preferiblemente, 2 o más nucleósidos abásicos son consecutivos, por ejemplo, todos los nucleósidos abásicos pueden ser consecutivos. Por ejemplo, el nucleósido terminal 1 o terminal 2 o terminal 3 o terminal 4 pueden ser nucleósidos abásicos.

- 35 Un nucleósido abásico también puede estar unido a un nucleósido adyacente a través de un enlace fosfodiéster 5'-3' o un enlace inverso a menos que sólo haya 1 nucleósido abásico en el extremo, en cuyo caso tendrá un enlace inverso al nucleósido adyacente.

- Un enlace inverso (que también puede denominarse enlace invertido, que también se observa en la técnica), comprende un enlace fosfodiéster 5'-5', 3'3', 3'-2' o 2'-3' entre los restos de azúcar adyacentes de los nucleósidos.

- 40 Los nucleósidos abásicos que no son terminales tendrán 2 enlaces fosfodiéster, uno con cada nucleósido adyacente, y estos pueden ser un enlace inverso o pueden ser un enlace fosfodiéster 5'-3 o pueden ser uno de cada uno.

- 45 Una realización preferida comprende 2 nucleósidos abásicos en las posiciones terminal y penúltima de la segunda cadena, y en donde el enlace internucleosídico inverso está localizado entre el penúltimo nucleósido (abásico) y el antepenúltimo nucleósido.

- 50 Preferiblemente, hay 2 nucleósidos abásicos en las posiciones terminal y penúltima de la segunda cadena y el penúltimo nucleósido está unido al antepenúltimo nucleósido a través de un enlace internucleosídico inverso y está unido al nucleósido terminal a través de un enlace fosfodiéster 5'-3' o 3'-5' (leyendo en la dirección del extremo de la molécula).

- 55 Preferiblemente, un ácido nucleico según la presente invención comprende uno o más nucleósidos abásicos, opcionalmente en donde el uno o más nucleósidos abásicos están en una región terminal de la segunda cadena, y/o en donde al menos un nucleósido abásico está unido a un nucleósido básico adyacente a través de un enlace internucleosídico inverso.

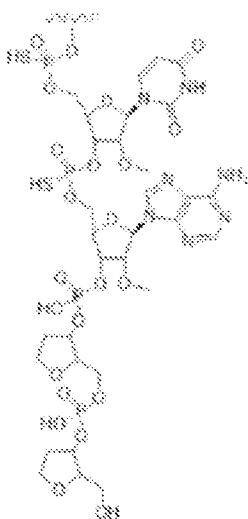
- 60 Típicamente, la segunda cadena comprende 2 nucleósidos abásicos consecutivos en la región 5' terminal de la segunda cadena, en donde uno de tales nucleósidos abásicos es un nucleósido terminal en la región 5' terminal de la segunda cadena y el otro nucleósido abásico es un penúltimo nucleósido en la región 5' terminal de la segunda cadena, en donde: (a) dicho penúltimo nucleósido abásico está conectado a un primer nucleósido básico adyacente en una región 5' adyacente cerca del terminal a través de un enlace internucleosídico inverso; y (b) el enlace inverso es un enlace inverso 5-5'; y (c) el enlace entre los nucleósidos abásicos terminal y penúltimo es 3'5' cuando se lee hacia el extremo que comprende los nucleósidos abásicos terminal y penúltimo.
- 65 Más típicamente, (i) la primera cadena y la segunda cadena tienen cada una una longitud de 23 nucleósidos; (ii) dos enlaces internucleosídicos de fosforotioato están respectivamente entre tres posiciones consecutivas

en dicha región 5' cercana al terminal de la segunda cadena, en donde un primer enlace internucleosídico de fosforotioato está presente entre dicho primer nucleósido básico adyacente de (a) y un segundo nucleósido básico adyacente en dicha región 5' cercana al terminal de la segunda cadena, y un segundo enlace internucleosídico de fosforotioato está presente entre dicho segundo nucleósido básico adyacente y un tercer nucleósido básico adyacente en dicha región 5' cercana al terminal de la segunda cadena; (iii) dos enlaces internucleosídicos de fosforotioato están respectivamente entre tres posiciones consecutivas en ambas regiones terminales 5' y 3' de la primera cadena, por lo que un nucleósido terminal respectivamente en cada una de las regiones terminales 5' y 3' de dicha primera cadena está unido cada uno a un penúltimo nucleósido adyacente 5' y 3' respectivo por un enlace internucleosídico de fosforotioato, y cada primer nucleósido penúltimo 5' y 3' está unido a un nucleósido antepenúltimo adyacente 5' y 3' respectivo por un enlace internucleosídico de fosforotioato; y (iv) la segunda cadena del ácido nucleico se conjuga directa o indirectamente a uno o más restos de ligando en la región 3' terminal de la segunda cadena.

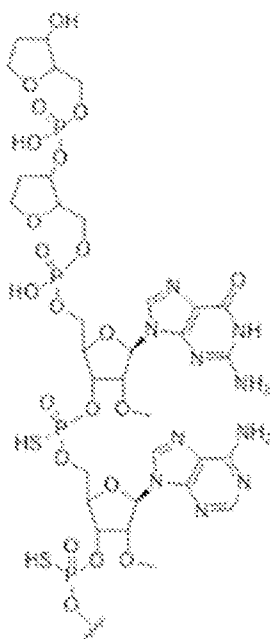
Alternativamente, la segunda cadena comprende 2 nucleósidos abásicos consecutivos, preferiblemente en una protuberancia en la región 3' terminal de la segunda cadena, en donde uno de tales nucleósidos abásicos es un nucleósido terminal en la región 3' terminal de la segunda cadena y el otro nucleósido abásico es un penúltimo nucleósido en la región 3' terminal de la segunda cadena, en donde: (a) dicho penúltimo nucleósido abásico está conectado a un primer nucleósido básico adyacente en una región 3' adyacente cercana al terminal a través de un enlace internucleosídico inverso; y (b) el enlace inverso es un enlace inverso 3'-3'; y (c) el enlace entre los nucleósidos abásicos terminal y penúltimo es 5'-3' cuando se lee hacia el extremo que comprende los nucleósidos abásicos terminal y penúltimo. Más típicamente, (i) la primera cadena y la segunda cadena tienen cada una una longitud de 23 nucleósidos; (ii) dos enlaces internucleosídicos de fosforotioato están respectivamente entre tres posiciones consecutivas en dicha región 3' cercana al terminal de la segunda cadena, en donde un primer enlace internucleosídico de fosforotioato está presente entre dicho primer nucleósido básico adyacente de (a) y un segundo nucleósido básico adyacente en dicha región 3' cercana al terminal de la segunda cadena, y un segundo enlace internucleosídico de fosforotioato está presente entre dicho segundo nucleósido básico adyacente y un tercer nucleósido básico adyacente en dicha región 3' cercana al terminal de la segunda cadena; (iii) dos enlaces internucleosídicos de fosforotioato están respectivamente entre tres posiciones consecutivas en ambas regiones terminales 5' y 3' de la primera cadena, por lo que un nucleósido terminal respectivamente en cada una de las regiones terminales 5' y 3' de dicha primera cadena está unido cada uno a un penúltimo nucleósido adyacente 5' y 3' respectivo por un enlace internucleosídico de fosforotioato, y cada primer nucleósido penúltimo 5' y 3' está unido a un nucleósido antepenúltimo adyacente 5' y 3' respectivo por un enlace internucleosídico de fosforotioato; y (iv) la segunda cadena del ácido nucleico se conjuga directa o indirectamente a uno o más restos de ligando en la región 5' terminal de la segunda cadena.

Los ejemplos de las estructuras son los siguientes (donde los nucleósidos de ARN específicos mostrados no son limitantes y podrían ser cualquier nucleósido de ARN):

- A. Un enlace inverso 3'-3' (y que también muestra la dirección 5'-3 del último enlace fosfodiéster entre las dos moléculas abásicas leyendo hacia el extremo de la molécula)



- B. Ilustra un enlace inverso 5'-5' (y también muestra la dirección 3'-5' del último enlace fosfodiéster entre las dos moléculas abásicas leyendo hacia el extremo de la molécula)



El nucleósido abásico o los nucleósidos abásicos presentes en el ácido nucleico se proporcionan en presencia de un enlace o enlaces internucleosídicos inversos, concretamente un enlace internucleosídico inverso 5'-5' o 3'-3'. Se produce un enlace inverso como resultado de un cambio de orientación de un azúcar de nucleósido adyacente, de manera que el azúcar tendrá una orientación 3'-5' en oposición a la orientación 5'-3' convencional (con referencia a la numeración de los átomos del anillo en los azúcares de nucleósidos). El nucleósido o nucleósidos abásicos como están presentes en los ácidos nucleicos de la invención incluyen preferiblemente dichos azúcares de nucleósidos invertidos.

En el caso de un nucleósido terminal que tenga una orientación invertida, esto dará como resultado una configuración de extremo "invertido" para el ácido nucleico global. Aunque ciertas estructuras dibujadas y referenciadas en la presente memoria se representan usando la dirección 5' - 3' convencional (con referencia a la numeración de los átomos del anillo en los azúcares de nucleósidos), se apreciará que la presencia de un nucleósido terminal que tiene un cambio de orientación y un enlace inverso 3'-3' proximal, dará como resultado un ácido nucleico que tiene una estructura de extremo 5' - 5' global (es decir, el nucleósido del extremo 3' convencional se convierte en un nucleósido del extremo 5'). Alternativamente, se apreciará que la presencia de un nucleósido terminal que tiene un cambio de orientación y un enlace inverso 5'-5' proximal dará como resultado un ácido nucleico con una estructura de extremo 3'-3' global.

El enlace inverso proximal 3'-3' o 5'-5' como se describe en la presente memoria, puede comprender que el enlace inverso sea directamente adyacente/esté unido a un nucleósido terminal que tiene una orientación invertida, tal como un único nucleósido terminal que tiene una orientación invertida. Alternativamente, el enlace inverso proximal 3'-3' o 5'-5' como se describe en la presente memoria, puede comprender que el enlace inverso sea adyacente a 2, o más de 2, nucleósidos que tienen una orientación invertida, tal como 2, o más de 2, nucleósidos de región terminal que tienen una orientación invertida, tal como los nucleósidos terminal y penúltimo. De esta manera, el enlace inverso puede unirse a un penúltimo nucleósido que tiene una orientación invertida. Aunque un destinatario experto apreciará que las orientaciones invertidas como se describió anteriormente pueden dar como resultado moléculas de ácido nucleico que tienen estructuras de extremo 3' - 3' o 5' - 5' globales como se describe en la presente memoria, también se apreciará que con la presencia de uno o más enlaces inversos y/o nucleósidos adicionales que tienen una orientación invertida, entonces el ácido nucleico global puede tener estructuras de extremo 3' - 5' correspondientes a los extremos 5'/3' posicionados convencionalmente.

En un aspecto, el ácido nucleico puede tener un enlace inverso 3'-3', y el resto de azúcar terminal puede comprender un OH en 5' en lugar de un grupo fosfato en 5' en la posición 5' de ese azúcar terminal.

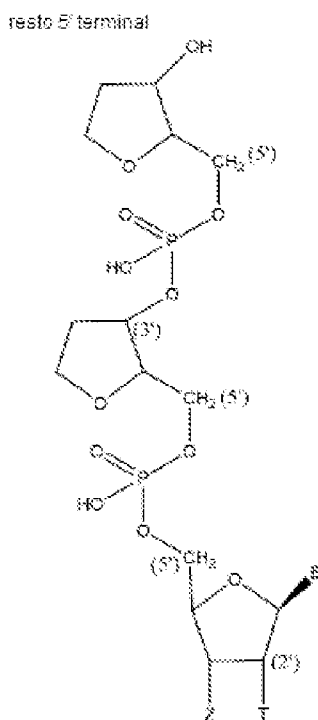
Por lo tanto, un experto en la técnica entendería claramente que las variantes de extremo 5'-5', 3'-3' y 3'-5' (leyendo en la dirección de ese extremo) de las estructuras 5'-3' más convencionales (con referencia a la numeración de los átomos del anillo en los azúcares de nucleósidos finales) dibujadas en la presente memoria están incluidas en el alcance de la divulgación, donde está/están presentes un enlace o enlaces inversos.

En la situación de, por ejemplo, un enlace internucleosídico inverso y/o uno o más nucleósidos que tienen una orientación invertida que crea un extremo invertido, y donde la posición relativa de un enlace (por ejemplo, a

un conector) o la localización de una característica interna (tal como un nucleósido modificado) se define con respecto al extremo 5' o 3' del ácido nucleico, entonces el extremo 5' o 3' es el extremo 5' o 3' convencional que habría existido si no estuviera un enlace inverso, y en donde el extremo 5' o 3' convencional se determina considerando la direccionalidad de la mayoría de los enlaces nucleosídicos internos y/u orientación de nucleósidos en el ácido nucleico. A partir de estos enlaces internos y/u orientación de nucleósidos es posible decir qué extremos del ácido nucleico constituirían los extremos 5' y 3' convencionales (con referencia a la numeración de los átomos del anillo en los azúcares de nucleósidos finales) de la molécula sin el enlace inverso.

[illegible]

En algunas realizaciones, la segunda cadena (con sentido) del ácido nucleico según la invención comprende 2 nucleósidos abásicos consecutivos en la región 5' terminal como se muestra en el siguiente resto 5' terminal



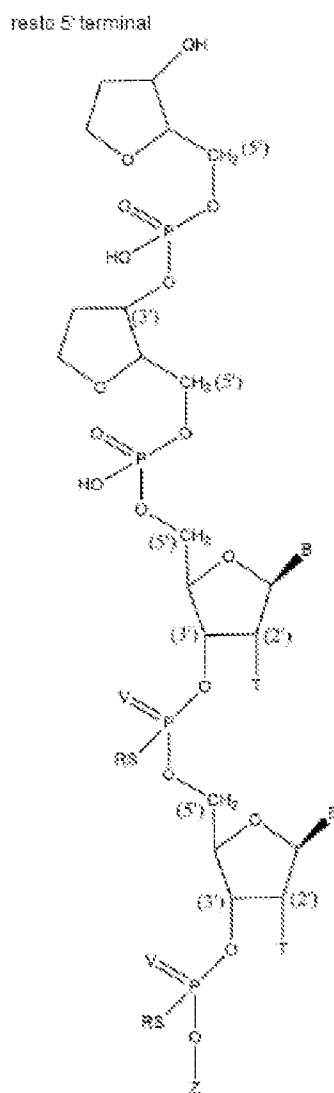
en donde:

B representa una base de nucleósido.

T representa H, OH o una modificación de la ribosa en 2',

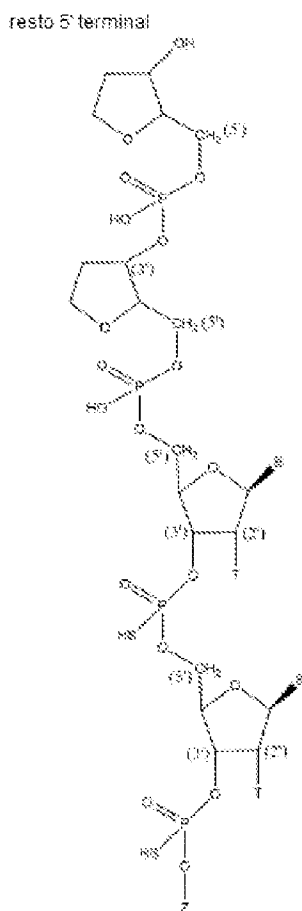
Z representa los nucleósidos remanentes de dicha segunda cadena.

En algunas realizaciones, la segunda cadena (con sentido) del ácido nucleico según la invención comprende 2 nucleósidos abásicos consecutivos en la región 5' terminal como se muestra en el siguiente resto 5' terminal



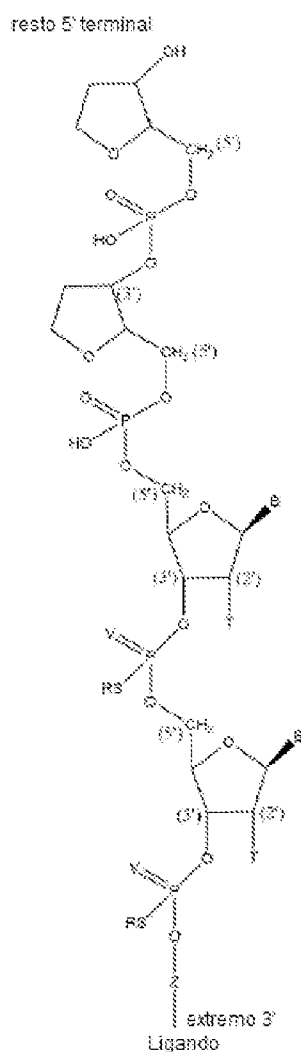
en donde:

- 5 B representa una base de nucleósido,
T representa H, OH o una modificación de la ribosa en 2' (preferiblemente una modificación de la ribosa en 2',
más preferiblemente una modificación de la ribosa 2'Me o 2'F),
10 V representa O o S (preferiblemente O),
R representa H o alquilo C₁₋₄ (preferiblemente H),
Z representa los nucleósidos remanentes de dicha segunda cadena,
15 más preferiblemente el siguiente resto 5' terminal



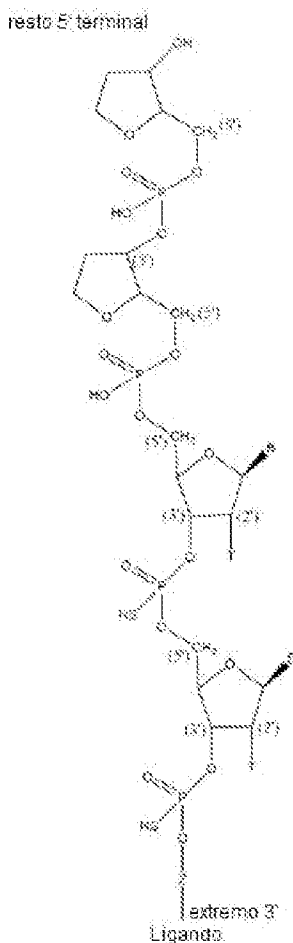
en donde:

- 5 B representa una base de nucleósido,
- T representa una modificación de la ribosa en 2' (preferiblemente una modificación de la ribosa 2'Me o 2'F),
- Z representa los nucleósidos remanentes de dicha segunda cadena.
- 10 El enlace inverso se localiza preferiblemente en el extremo del ácido nucleico, por ejemplo, ARN que es distal a un resto de ligando, tal como una porción que contiene GalNAc, de la molécula.
- 15 Las construcciones de GalNAc-ARNsi con un 5'-GalNAc en la cadena con sentido pueden tener un enlace inverso en el extremo opuesto de la cadena con sentido.
- Las construcciones de GalNAc-ARNsi con un 3'-GalNAc en la cadena con sentido pueden tener un enlace inverso en el extremo opuesto de la cadena con sentido.
- 20 En una realización preferida, la segunda cadena (con sentido) del ácido nucleico según la invención comprende 2 nucleósidos abásicos consecutivos en la región 5' terminal como se muestra en el siguiente resto 5' terminal



en donde:

- 5 B representa una base de nucleósido,
- T representa H, OH o una modificación de la ribosa en 2' (preferiblemente una modificación de la ribosa en 2', más preferiblemente una modificación en la ribosa 2'Me o 2'F),
- 10 V representan O o S (preferiblemente O),
- R representa H o alquilo C₁₋₄ (preferiblemente H),
- 15 Z comprende de 11 a 26 nucleósidos contiguos, preferiblemente de 15 a 21 nucleósidos contiguos, y más preferiblemente 19 nucleósidos contiguos,
- más preferiblemente el siguiente resto 5' terminal



en donde:

- 5 B representa una base de nucleósido,
- T representa una modificación de la ribosa en 2' (preferiblemente una modificación de la ribosa 2'Me o 2'F),
- Z comprende 19 nucleósidos contiguos.

Longitudes de los ácidos nucleicos

En un aspecto, i) la primera cadena del ácido nucleico tiene una longitud en el rango de 17 a 30 nucleósidos, preferiblemente de 19 a 25 nucleósidos, más preferiblemente 19 o 23 nucleósidos; y/o ii) la segunda cadena del ácido nucleico tiene una longitud en el rango de 17 a 30 nucleósidos, preferiblemente de 19 a 25 nucleósidos, más preferiblemente 19 o 21 nucleósidos.

Típicamente, la región dúplex del ácido nucleico tiene una longitud entre 17 y 30 nucleósidos, más preferiblemente tiene una longitud de 19 o 21 nucleósidos. De manera similar, la región de complementariedad entre la primera cadena y la porción de ARN transcrito del gen ZPI tiene una longitud entre 17 y 30 nucleósidos.

Modificaciones de los ácidos nucleicos

En ciertas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, un ARN de la invención, por ejemplo, un ARNdsi, no comprende modificaciones adicionales, por ejemplo, modificaciones químicas o conjugaciones conocidas en la técnica y descritas en la presente memoria.

En otras realizaciones preferidas, el ácido nucleico, por ejemplo, el ARN de la invención, por ejemplo, un ARNdsi, se modifica químicamente adicionalmente para potenciar la estabilidad u otras características beneficiosas.

En ciertas realizaciones de la invención, sustancialmente todos los nucleósidos están modificados.

Los ácidos nucleicos presentados en la invención pueden sintetizarse o modificarse mediante métodos bien establecidos en la técnica, tales como los descritos en "Current protocols in nucleic acid chemistry", Beaucage, S.L. et al. (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, NY, EE. UU.

- 5 Las modificaciones incluyen, por ejemplo, modificaciones de los extremos, por ejemplo, modificaciones de los extremos 5' (fosforilación, conjugación, enlaces invertidos) o modificaciones de los extremos 3' (conjugación, nucleósidos de ADN en un ARN, o nucleósidos de ARN en un ADN, enlaces invertidos, etc.); modificaciones de las bases, por ejemplo, reemplazo con bases estabilizantes, bases desestabilizantes, o bases que se emparejan por bases con un repertorio expandido de parejas, bases conjugadas; modificaciones del azúcar (por ejemplo, en la posición 2' o la posición 4') o reemplazo del azúcar; o modificaciones de la estructura, incluyendo modificación o reemplazo de los enlaces fosfodiéster.

- 15 Los ejemplos específicos de ácidos nucleicos tales como compuestos de ARNsi útiles en las realizaciones descritas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a, ARN que contienen cadenas principales modificadas o con enlaces internucleosídicos no naturales. Los ácidos nucleicos tales como los ARN que tienen esqueletos modificados incluyen, entre otros, aquellos que no tienen un átomo de fósforo en el esqueleto. Para los fines de esta memoria descriptiva, y como a veces se hace referencia en la técnica, los ácidos nucleicos modificados, por ejemplo, ARN que no tienen un átomo de fósforo en su estructura principal internucleosídica, también pueden considerarse oligonucleósidos. En algunas realizaciones, un ácido nucleico modificado, por ejemplo, un ARNsi, tendrá un átomo de fósforo en su estructura principal internucleosídica.

- 25 Los ácidos nucleicos modificados, por ejemplo, esqueletos de ARN, incluyen, por ejemplo, fosforotioatos, fosforotioatos quirales, fosforoditioatos, fosfotriésteres, aminoalquilfosfotriésteres, fosfonatos de metilo y de otros alquilo, incluyendo fosfonatos de 3'-alquilo y fosfonatos quirales, fosfinatos, fosforamidatos, incluyendo fosforamidato de 3'-amino y aminoalquilfosforamidatos, tionofosforamidatos, tionoalquilfosfonatos, tionoalquilfosfotriésteres y boranofosfatos que tienen enlaces 3'-5' normales, análogos de éstos unidos en 2'-5', y aquellos que tienen polaridad invertida, en donde los pares adyacentes de unidades de nucleósidos están unidos en 5'-3' o 5'-2'. También se incluyen diversas sales, sales mixtas y formas de ácido libre.

- 30 Los ácidos nucleicos modificados, por ejemplo, ARN, también pueden contener uno o más restos de azúcar sustituidos. Los ácidos nucleicos, por ejemplo, ARNsi, por ejemplo, ARNdsi, presentados en la presente memoria pueden incluir uno de los siguientes en la posición 2': OH; F; O-, S- o N-alquilo; O-, S- o N-alqueno; O-, S- o N-alquino; u O-alquil-O-alquilo, en donde el alquilo, alqueno y alquino pueden estar sustituidos o no sustituidos. Las modificaciones preferidas son 2' O-metilo y 2' -F.

- 35 En ciertas realizaciones preferidas, el ácido nucleico comprende al menos un nucleósido modificado.

- El ácido nucleico de la divulgación puede comprender uno o más nucleósidos modificados en la primera cadena y/o la segunda cadena.

- 40 En algunas realizaciones, sustancialmente todos los nucleósidos de la cadena con sentido y todos los nucleósidos de la cadena antisentido comprenden una modificación.

- 45 En algunas realizaciones, todos los nucleósidos de la cadena con sentido y sustancialmente todos los nucleósidos de la cadena antisentido comprenden una modificación.

- En algunas realizaciones, todos los nucleósidos de la cadena con sentido y todos los nucleósidos de la cadena antisentido comprenden una modificación.

- 50 En una realización, al menos uno de los nucleósidos modificados se selecciona del grupo que consiste en un desoxinucleósido, un nucleósido de desoxi-timina (dT) 3'-terminal, un nucleósido modificado con 2'-O-metilo (también denominado en la presente memoria 2'-Me, en donde Me es un metoxi), un nucleósido modificado con 2'-fluoro, un nucleósido modificado con 2'-desoxi, un nucleósido bloqueado, un nucleósido desbloqueado, un nucleósido restringido conformacionalmente, un nucleósido de etilo restringido, un nucleósido abásico, un nucleósido modificado con 2'-amino, un nucleósido modificado con 2'-O-alilo, un nucleósido modificado con 2'-O-alquilo, un nucleósido modificado con 2'-hidroxilo, un nucleósido modificado con 2'-metoxietilo, un nucleósido modificado con 2'-O-alquilo, un nucleósido de morfolino, un fosforamidato, un nucleósido que comprende una base no natural, un nucleósido modificado con tetrahidropirano, un nucleósido modificado con 1,5-anhidrohexitol, un nucleósido modificado con ciclohexenilo, un nucleósido que comprende un grupo fosforotioato, un nucleósido que comprende un grupo metilfosfonato, un nucleósido que comprende un 5'-fosfato, y un nucleósido que comprende un mimético de 5'-fosfato. En otra realización, los nucleósidos modificados comprenden una secuencia corta 3'-terminal de nucleósidos de desoxi-timina (dT).

- 65 Las modificaciones en los nucleósidos pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que incluye, pero no se limita a, LNA, HNA, CeNA, 2'-metoxietilo, 2'-O-alquilo, 2'-O-alilo, 2'-C-alilo, 2'-fluoro, 2'-desoxi, 2'-hidroxilo y combinaciones de los mismos. En otra realización, las modificaciones en los nucleósidos son modificaciones

2-O-metilo ("2'-Me") o 2'-fluoro.

Una modificación preferida es una modificación en el grupo 2'-OH del azúcar ribosa, opcionalmente seleccionada de modificaciones 2'-Me o 2'-F.

El ácido nucleico preferido comprende uno o más nucleósidos en la primera cadena y/o la segunda cadena que se modifican, para formar nucleósidos modificados, como sigue:

Un ácido nucleico en donde la modificación es una modificación en el grupo 2'-OH del azúcar ribosa, opcionalmente seleccionada de modificaciones 2'-Me o 2'-F.

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende una modificación 2'-F en cualquiera de la posición 2, posición 6, posición 14, o cualquier combinación de las mismas, contando desde la posición 1 de dicha primera cadena.

Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende una modificación 2'-F en cualquiera de la posición 7, posición 9, posición 11, o cualquier combinación de las mismas, contando desde la posición 1 de dicha segunda cadena.

Un ácido nucleico en donde la primera y segunda cadena comprenden, cada una, modificaciones 2'-Me y 2'-F.

Un ácido nucleico que comprende al menos una modificación desestabilizante térmicamente, adecuadamente en una o más de las posiciones 1 a 9 de la primera cadena contando desde la posición 1 de la primera cadena, y/o en una o más de las posiciones en la segunda cadena alineadas con las posiciones 1 a 9 de la primera cadena, en donde la modificación desestabilizante se selecciona de un ácido nucleico desbloqueado (UNA) modificado y un ácido nucleico glicólico (GNA), preferiblemente un ácido nucleico glicólico, más preferiblemente un ácido nucleico (S)-glicólico.

Un ácido nucleico que comprende al menos una modificación desestabilizante térmicamente en la posición 7 de la primera cadena, contando desde la posición 1 de la primera cadena.

Un ácido nucleico que es un oligonucleósido de ARNsi, en donde el oligonucleósido de ARNsi comprende 3 o más modificaciones 2'-F en las posiciones 6 a 12 de la segunda cadena, tales como 4, 5, 6 o 7 modificaciones 2'-F en las posiciones 6 a 12 de la segunda cadena, contando desde la posición 1 de dicha segunda cadena.

Un ácido nucleico que es un oligonucleósido de ARNsi, en donde dicha segunda cadena comprende al menos 3, tal como 4, 5 o 6, modificaciones 2'-Me en las posiciones 1 a 6 de la segunda cadena, contando desde la posición 1 de dicha segunda cadena.

Un ácido nucleico que es un oligonucleósido de ARNsi, en donde dicha primera cadena comprende al menos 5 modificaciones consecutivas 2'-Me en la región 3' terminal, incluyendo preferiblemente el nucleósido terminal en la región 3' terminal, o al menos dentro de 1 o 2 nucleósidos desde el nucleósido terminal en la región 3' terminal.

Un ácido nucleico que es un oligonucleósido de ARNsi, en donde dicha primera cadena comprende 7 modificaciones consecutivas 2'-Me en la región 3' terminal, incluyendo preferiblemente el nucleósido terminal en la región 3' terminal.

Un ácido nucleico que es un oligonucleósido de ARNsi, en donde cada una de la primera y segunda cadena comprende un patrón de modificación alternante, preferiblemente un patrón de modificación totalmente alternante a lo largo de la longitud completa de cada una de la primera y segunda cadena, en donde los nucleósidos de la primera cadena se modifican mediante (i) modificaciones 2'-Me en los nucleósidos de número impar contando desde la posición 1 de la primera cadena, y (ii) modificaciones 2'-F en los nucleósidos de número par contando desde la posición 1 de la primera cadena, y los nucleósidos de la segunda cadena se modifican mediante (i) modificaciones 2'-F en los nucleósidos de número impar contando desde la posición 1 de la segunda cadena, y (ii) modificaciones 2'-Me en los nucleósidos de número par contando desde la posición 1 de la segunda cadena. Típicamente, tales patrones de modificación totalmente alternantes están presentes en un oligonucleósido de extremo romo, en donde cada una de la primera y segunda cadena tiene una longitud de 19 nucleósidos.

La posición 1 de la primera o la segunda cadena es el nucleósido que es el más cercano al extremo del ácido nucleico (ignorando cualquier nucleósido abásico) y que se une a un nucleósido adyacente (en la Posición 2) a través de un enlace interno 3' a 5', con referencia a los enlaces entre los restos de azúcar de la cadena principal, y leyendo en una dirección lejos de ese extremo de la molécula.

Por lo tanto, se puede observar que la "posición 1 de la cadena con sentido" es el nucleósido más en 5' (que

no incluye nucleósidos abásicos) en el extremo 5' convencional de la cadena con sentido. Típicamente, el nucleósido en esta posición 1 de la cadena con sentido será equivalente al nucleósido 5' de la secuencia de ácido nucleico diana seleccionada, y más generalmente la cadena con sentido tendrá nucleósidos equivalentes a los de la secuencia de ácido nucleico diana comenzando desde esta posición 1 de la cadena con sentido, mientras que también permite emparejamientos erróneos aceptables entre las secuencias.

Como se usa en la presente memoria, la "posición 1 de la cadena antisentido" es el nucleósido más en 5' (que no incluye nucleósidos abásicos) en el extremo 5' convencional de la cadena antisentido. Como se ha descrito anteriormente en la presente memoria, habrá una región de complementariedad entre la cadena con sentido y antisentido, y de esta manera la cadena antisentido también tendrá una región de complementariedad con la secuencia de ácido nucleico diana como se ha mencionado anteriormente.

En ciertas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, un agente de ARNsi, comprende además al menos un enlace internucleosídico fosforotioato o metilfosfonato. Por ejemplo, el enlace internucleosídico fosforotioato o metilfosfonato puede estar en el extremo 3' o en la región terminal de una cadena, es decir, la cadena con sentido o la cadena antisentido; o en los extremos de ambas cadenas, la cadena con sentido y la cadena antisentido.

En ciertas realizaciones, el enlace internucleosídico fosforotioato o metilfosfonato está en el extremo 5' o en la región terminal de una cadena, es decir, la cadena con sentido o la cadena antisentido; o en los extremos de ambas cadenas, la cadena con sentido y la cadena antisentido.

En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico fosforotioato o metilfosfonato está tanto en el extremo 5' como 3' o en la región terminal de una cadena, es decir, la cadena con sentido o la cadena antisentido; o en los extremos de ambas cadenas, la cadena con sentido y la cadena antisentido.

Cualquier ácido nucleico puede comprender una o más modificaciones de fosforotioato (PS) dentro del ácido nucleico, tal como al menos dos enlaces internucleosídicos PS en los extremos de una cadena.

Al menos una de las cadenas de oligonucleósidos comprende preferiblemente al menos dos modificaciones de fosforotioato consecutivas en los últimos 3 nucleósidos del oligonucleósido.

La invención también se refiere, por lo tanto a: Un ácido nucleico divulgado en la presente memoria que comprende enlaces internucleosídicos fosforotioato respectivamente entre al menos dos o tres posiciones consecutivas, tal como en una región 5' y/o 3' terminal y/o región casi terminal de la segunda cadena, por lo que dicha región casi terminal es preferiblemente adyacente a dicha región terminal en donde dicho uno o más nucleósidos abásicos de dicha segunda cadena están localizados.

Un ácido nucleico divulgado en la presente memoria que comprende enlaces internucleosídicos fosforotioato respectivamente entre al menos dos o tres posiciones consecutivas en una región 5' y/o 3' terminal de la primera cadena, por lo que preferiblemente la posición terminal en la región 5' y/o 3' terminal de dicha primera cadena está unida a su posición adyacente por un enlace internucleosídico fosforotioato.

La cadena de ácido nucleico puede ser un ARN que comprende un enlace internucleosídico fosforotioato entre los tres nucleósidos contiguos con 2 nucleósidos abásicos localizados terminalmente.

Un ácido nucleico preferido es un ARN bicatenario que comprende 2 nucleósidos abásicos adyacentes en el extremo 5' de la segunda cadena y un resto de ligando que comprende uno o más restos de ligando GalNAc en el extremo 3' opuesto de la segunda cadena. Más preferiblemente, el mismo ácido nucleico también puede comprender un enlace fosforotioato entre nucleótidos en las posiciones 3-4 y 4-5 de la segunda cadena, leyendo desde la posición 1 de la segunda cadena. Más preferiblemente, el mismo ácido nucleico también puede comprender una modificación 2'F en las posiciones 7, 9 y 11 de la segunda cadena.

Las modificaciones preferidas son las siguientes.

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación según uno cualquiera de los siguientes (5'-3'):

Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - Me, o

Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o

Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o

Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me.

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación según uno cualquiera de los siguientes (5'-3'):

5

Me(s)Me(s)Me - Me - Me - Me - F - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - Me, o
Me(s)Me(s)Me - Me - Me - F - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
Me(s)Me(s)Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
Me(s)Me(s)Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
Me(s)Me(s)Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F(s)Me(s)Me, o
Me - Me - Me - Me - Me - F - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me(s)Me(s)Me, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me(s)Me(s)Me, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me(s)Me(s)Me, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me(s)Me(s)Me.

en donde (s) es un enlace internucleosídico fosforotioato.

10

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación según uno cualquiera de los siguientes (5'-3'):

ia - ia - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - Me, o
ia - ia - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
ia - ia - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
ia - ia - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
ia - ia - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - Me - ia - ia, o
Me - Me - Me - Me - Me - F - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - ia - ia, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - ia - ia, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - ia - ia, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - ia - ia,

15

en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y cuando los nucleósidos abásicos invertidos como se representan por ia-ia están presentes en el extremo 3' de la segunda cadena, dichos nucleósidos abásicos invertidos están presentes en una protuberancia de 2 nucleósidos.

20

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación según uno cualquiera de los siguientes (5'-3'):

ia - ia - Me(s)Me(s)Me - Me - Me - Me - F - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - Me, o
ia - ia - Me(s)Me(s)Me - Me - Me - Me - F - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
ia - ia - Me(s)Me(s)Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
ia - ia - Me(s)Me(s)Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
ia - ia - Me(s)Me(s)Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F(s)Me(s)Me - ia - ia, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me(s)Me(s)Me - ia - ia, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me(s)Me(s)Me - ia - ia, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me(s)Me(s)Me - ia - ia, o
Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - F - Me - F - F - F - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me - Me(s)Me(s)Me - ia - ia,

en donde:

(s) es un enlace internucleosídico fosforotioato, ia representa un nucleósido abásico invertido, y cuando los nucleósidos abásicos invertidos como se representan por ia-ia están presentes en el extremo 3' de la segunda cadena, dichos nucleósidos abásicos invertidos están presentes en una protuberancia de 2 nucleósidos.

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados comprenden uno cualquiera de los siguientes patrones de modificación:

Patrón de modificación 1: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-Me, Primera cadena (5'-3'): Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me

O Patrón de modificación 2: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-F-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Primeracadena (5'-3'):Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me

O Patrón de modificación 3: Segunda cadena (5-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me
-Me-Me-Me-Me, Primera cadena (5-3') Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me

O Patrón de modificación 4: Segunda cadena (5-3') Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me
-Me-Me-Me-Me-Primera cadena(5-3') Me-F-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me
-Me-Me-Me-Me

[illegible][illegible]

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados comprenden uno cualquiera de los siguientes patrones de modificación:

Patrón de modificación 1: Segunda cadena (5'-3'): Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-F-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-Me-Me-Primeracadena(5-3'): Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación 2: Segunda cadena (5'-3') Me(s)Me(s)Me-Me-Me-F-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Primera cadena (5'-3') Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación 3: Segunda cadena (5'-3'): Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Mc-Mc-Mc-Mc-Mc-Mc-Primera cadena(5'-3')Ms(s)F(s)Mc-F-Mc-F-Mc-F-F-Mc-Mc-Mc-Mc-Mc-F-Mc-F-Mc-Mc-Mc-Mc-Mc-Mc-Mc

O Patrón de modificación 4: Segunda cadena (5'-3'): Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Primeracadena(5'-3')Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me

[illegible][illegible]

en donde (s) es un enlace internucleosídico fosforotioato.

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados comprenden uno cualquiera de los siguientes patrones de modificación:

Patrón de modificación 1. Segunda cadena (5-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F(s)Me(s)Me. Primera cadena (5-3'): Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación 2: Segunda cadena (5'-3') Me-Me-Me-Me-Me-F-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me,Primera cadena(5'-3')Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación 3: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me
-Me-Me(s)Me(s)Me Primera cadena(5'-3'):Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-
Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

G Patrón de modificación 4: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F- π - π -F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me, Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación E: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me. Primeracadena(5'-3'): Me(s)F(s)Me-Me-Me-F-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación 5: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me, Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-Me-Me-F-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

en donde (s) es un enlace internucleosídico fosforotioato.

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados comprenden uno cualquiera de los siguientes patrones de modificación:

Patrón de modificación 1: Segunda cadena (5'-3') ia-ia-Mc-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-F-F-Mc-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-Me, Primeracadena(5'-3'): Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me - Me - Me

O Patrón de modificación Z: Segunda cadena (5'-3'): la-ia-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me
-Me-Me-Me-Me-Me.Primeracadena(5'-3')Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-
Me-Me-Me-Me-Me

O Patrón de modificación 3: Segunda cadena (5'-3'): la-la-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-
Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me; Primera cadena(5'-3') Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-
Me-Me-Me-Me-Me

Página 98 de 107

[illegible]

O Patrón de modificación 5: Segunda cadena (5'-3'): la-la-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Primera cadena(5-3):Me-F-Me-Me-Me-F-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me

O Patrón de modificación 6: Segunda cadena (5'-3'): **la-la-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-**
Me-Me-Me-Me-Me-Me-Primera cadena(5'-3') **Me-F-Me-Me-Me-F-Me-Me-F-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-**
Me-Me-Me-Me-Me-Me.

en donde ia representa un nucleósido abásico invertido.

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados comprenden uno cualquiera de los siguientes patrones de modificación:

Patrón de modificación 1: Segunda cadena (5-3): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-Me-ia-ia, Primera cadena (5-3) Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me

D. Patrón de modificación 2: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-F-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-ix-ix. Primera cadena (5'-3'): Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me

Q Patrón de modificación 3: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me
-Me-Me-Me-Me-ia-ia, Primera cadena (5'-3') Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-
Me-Me-Me-Me-Me

O Patrón de modificación 4: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me
-Me-Me-Me-Me-(a-a)Primera cadena(5'-3'): Mo-F-Mo-F-Mo-F-Mo-Mo-Mo-Mo-Mo-Mo-Mo-Mo-F-Mo-F-Mo-
Me-Me-Me-Me-Me-Me

O Patrón de modificación 5: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-ia-ia, Primeracadena(5'-3'):Me-F-Me-Me-Me-F-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me

O Patrón de modificación 6: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-ia-ia, Primeracadena(5'-3'): Me-F-Me-Me-Me-F-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me.

en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y cuando los nucleósidos abásicos invertidos como se representan por ia-ia están presentes en el extremo 3' de la segunda cadena, dichos nucleósidos abásicos invertidos están presentes en una protuberancia de 2 nucleósidos.

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados comprenden uno cualquiera de los siguientes patrones de modificación:

Patrón de modificación 1: Segunda cadena (5'-3'): la-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-F-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-Me-Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

[illegible]

G Patrón de modificación 3: Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

[illegible][illegible][illegible]

en donde:

(s) es un enlace internucleosídico fosforotioato, ia representa un nucleósido abásico invertido.

Un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados comprenden uno cualquiera de los siguientes patrones de modificación:

Patrón de modificación 1: Segunda cadena (5-3): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F(s)Me(s)Me(-ia-ia, Primeracadena(5-3): Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación 2: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-F-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me-ia-ia, Primera cadena (5'-3') Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación 3: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me(-ia-ia Primera cadena(5'-3'):Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación 4: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me
-Me-Me(s)Me(s)Me(-ia -ia). Primera cadena(5'-3')Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-
Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

O Patrón de modificación 5: Segunda cadena (5-3): Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me-la-lalPrimeracadena(5-3):Me(s)F(s)Me-Me-Me-F-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

Q Patrón de modificación 8: Segunda cadena (5'-3'): Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me(-a-(-a, Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-Me-Me-F-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me

en donde: (s) es un enlace internucleosídico fosforotioato, ia representa un nucleósido abásico invertido, y cuando los nucleósidos abásicos invertidos como se representan por ia-ia están presentes en el extremo 3' de la segunda cadena, dichos nucleósidos abásicos invertidos están presentes en una protuberancia de 2 nucleósidos.

Es particularmente preferido un ácido nucleico en donde los nucleósidos modificados comprenden el siguiente patrón de modificación:

[illegible]

en donde: (s) es un enlace internucleosídico fosforotioato, ia representa un nucleósido abásico invertido.

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, siempre que el número

total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena no consista en cuatro, o seis, modificaciones 2'F.

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, en donde el número

5

total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena consiste en tres, cinco o siete modificaciones 2'F.

10

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, en donde el número

15

total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena consiste en cinco modificaciones 2'F.

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

$$\text{Me} - \text{F} - \text{Me} - \text{X}_2 - \text{Me} - \text{F} - (\text{Me})_7 - (\text{F} - \text{Me})_2 - \text{X}_3 - \text{Me} - \text{X}_4 - (\text{Me})_3$$

20

en donde X_2 , X_3 y X_4 se seleccionan de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, siempre que para X_2 , X_3 y X_4 al menos una es una modificación de azúcar 2'F, y las otras dos modificaciones de azúcar son modificaciones de azúcar 2'Me.

25

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

$$\text{Me} - \text{F} - \text{Me} - \text{X}_2 - \text{Me} - \text{F} - (\text{Me})_7 - (\text{F} - \text{Me})_2 - \text{X}_3 - \text{Me} - \text{X}_4 - (\text{Me})_3$$

30

en donde X_2 es una modificación de azúcar 2'F, y X_3 y X_4 son modificaciones de azúcar 2'Me.

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

$$\text{Me} - \text{F} - \text{Me} - \text{X}_2 - \text{Me} - \text{F} - (\text{Me})_7 - (\text{F} - \text{Me})_2 - \text{X}_3 - \text{Me} - \text{X}_4 - (\text{Me})_3$$

35

en donde X_3 es una modificación de azúcar 2'F, y X_2 y X_4 son modificaciones de azúcar 2'Me.

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

40

$$\text{Me} - \text{F} - \text{Me} - \text{X}_2 - \text{Me} - \text{F} - (\text{Me})_7 - (\text{F} - \text{Me})_2 - \text{X}_3 - \text{Me} - \text{X}_4 - (\text{Me})_3$$

en donde X_4 es una modificación de azúcar 2'F, y X_2 y X_3 son modificaciones de azúcar 2'Me.

45

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, en donde el número

total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena consiste en siete modificaciones 2'F.

50

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

$$\text{Me} - \text{F} - \text{Me} - \text{X}_2 - \text{Me} - \text{F} - \text{Me} - (\text{F})_2 - (\text{Me})_4 - (\text{F} - \text{Me})_2 - \text{X}_3 - \text{Me} - \text{X}_4 - (\text{Me})_3$$

55

en donde X_2 , X_3 y X_4 se seleccionan de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, siempre que para X_2 , X_3 y X_4 al menos una es una modificación de azúcar 2'F, y las otras dos modificaciones de azúcar son modificaciones de azúcar 2'Me.

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

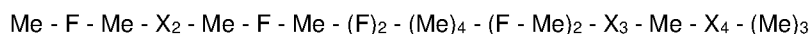
60

$$\text{Me} - \text{F} - \text{Me} - \text{X}_2 - \text{Me} - \text{F} - \text{Me} - (\text{F})_2 - (\text{Me})_4 - (\text{F} - \text{Me})_2 - \text{X}_3 - \text{Me} - \text{X}_4 - (\text{Me})_3$$

en donde X_2 es una modificación de azúcar 2'F, y X_3 y X_4 son modificaciones de azúcar 2'Me.

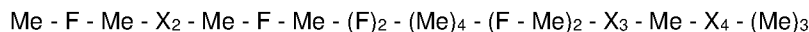
65

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



en donde X_3 es una modificación de azúcar 2'F, y X_2 y X_4 son modificaciones de azúcar 2'Me.

- 5 Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



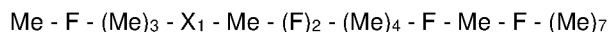
- 10 en donde X_4 es una modificación de azúcar 2'F, y X_2 y X_3 son modificaciones de azúcar 2'Me.

Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

- 15 $\text{Me} - \text{F} - (\text{Me})_3 - \text{X}_1 - (\text{Me})_7 - \text{F} - \text{Me} - \text{F} - (\text{Me})_7$

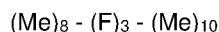
en donde X_1 es una modificación desestabilizante térmicamente.

- 20 Un ácido nucleico en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

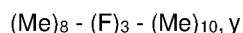


en donde X_1 es una modificación desestabilizante térmicamente.

- 25 Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

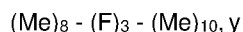


- 30 Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



- 35 en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, siempre que el número total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena no consista en cuatro, o seis, modificaciones 2'F.

- 40 Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



- 45 en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, en donde el número total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena consiste en tres, cinco o siete modificaciones 2'F.

- 50 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

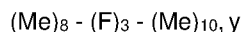
- 55 $(\text{Me})_8 - (\text{F})_3 - (\text{Me})_{10}, \text{y}$

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

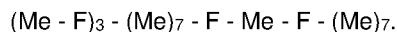
- 60 $\text{Me} - \text{F} - (\text{Me})_3 - \text{X}_1 - (\text{Me})_7 - \text{F} - \text{Me} - \text{F} - (\text{Me})_7$, en donde X_1 es una modificación desestabilizante térmicamente.

- 65 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden

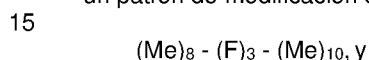
un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



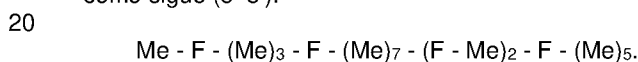
- 5 en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



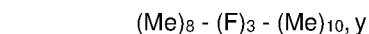
- 10 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



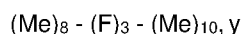
- 25 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



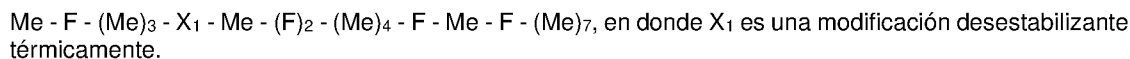
en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



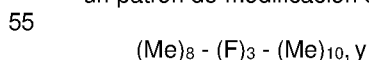
- 40 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



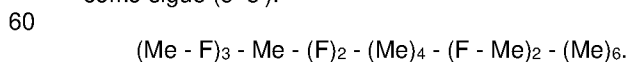
en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



- 50 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

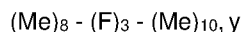


en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

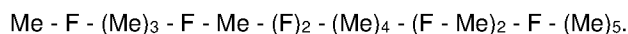


- 65 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden

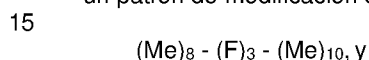
un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



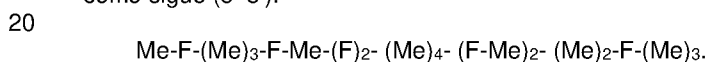
- 5 en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



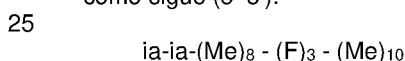
- 10 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):



Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):



en donde ia representa un nucleósido abásico invertido.

- 30 Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):



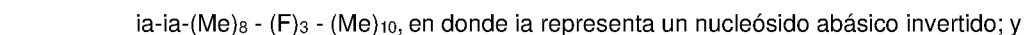
- 35 en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, siempre que el número total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena no consista en cuatro, o seis, modificaciones 2'F.

- 40 Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):



- 45 en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, en donde el número total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena consiste en tres, cinco o siete modificaciones 2'F.

- 50 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):



en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

- 60 $Me - F - (Me)_3 - X_1 - (Me)_7 - F - Me - F - (Me)_7, \text{ en donde } X_1 \text{ es una modificación desestabilizante térmicamente.}$

- 65 Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-(Me)₈ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido; y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

(Me - F)₃ - (Me)₇ - F - Me - F - (Me)₇.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-(Me)₈ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido; y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me - F - (Me)₃ - F - (Me)₇ - (F - Me)₂ - F - (Me)₅.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-(Me)₈ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido; y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me - F - (Me)₃ - F - (Me)₇ - F - Me - F - (Me)₃ - F - (Me)₃.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-(Me)₈ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido; y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me - F - (Me)₃ - X₁ - Me - (F)₂ - (Me)₄ - F - Me - F - (Me)₇,

en donde X₁ es una modificación desestabilizante térmicamente.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-(Me)₈ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido; y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

(Me - F)₃ - Me - (F)₂ - (Me)₄ - (F - Me)₂ - (Me)₆.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-(Me)₈ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido; y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me - F - (Me)₃ - F - Me - (F)₂ - (Me)₄ - (F - Me)₂ - F - (Me)₅.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-(Me)₈ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido; y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me - F - (Me)₃ - F - Me - (F)₂ - (Me)₄ - (F - Me)₂ - (Me)₂ - F - (Me)₃.

Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀,

en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato.

Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato; y

en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, siempre que el número total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena no consista en cuatro, o seis, modificaciones 2'F.

Un ácido nucleico en donde la segunda cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato; y

en donde la primera cadena comprende un patrón de modificación de azúcar en 2' en donde dichas modificaciones se seleccionan al menos de modificaciones de azúcar 2'Me y 2'F, en donde el número total de modificaciones de azúcar 2'F en la primera cadena consiste en tres, cinco o siete modificaciones 2'F.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato, y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me(s)F(s)(Me)₃ - X₁ - (Me)₇ - F - Me - F - (Me)₅(s)Me(s)Me, en donde X₁ es una modificación desestabilizante térmicamente.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden

un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato, y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me(s)F(s)Me - F - Me - F - (Me)₇ - F - Me - F - (Me)₅(s)Me(s)Me.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato, y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me(s)F(s)(Me)₃ - F - (Me)₇ - (F - Me)₂ - F - (Me)₃(s)Me(s)Me.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato, y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me(s)F(s)(Me)₃ - F - (Me)₇ - F - Me - F - (Me)₃ - F - Me(s)Me(s)Me.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato, y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me(s)F(s)(Me)₃ - X₁ - Me - (F)₂ - (Me)₄ - F - Me - F - (Me)₅(s)Me(s)Me, en donde X₁ es una modificación térmicamente desestabilizante

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato, y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me(s)F(s)Me - F - Me - F - Me - (F)₂ - (Me)₄ - (F - Me)₂ - (Me)₄(s)Me(s)Me.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato, y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me(s)F(s)(Me)₃ - F - Me - (F)₂ - (Me)₄ - (F - Me)₂ - F - (Me)₃(s)Me(s)Me.

Un ácido nucleico que comprende una primera cadena que es al menos parcialmente complementaria a una porción de ARN transcrito a partir del gen diana, y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera y segunda cadena forman una región dúplex con una longitud de al menos 17 nucleósidos, y en donde los nucleósidos de dicha segunda cadena comprenden un azúcar en 2', y un patrón de modificación abásica como sigue (5'-3'):

ia-ia-Me(s)Me(s) (Me)₆ - (F)₃ - (Me)₁₀, en donde ia representa un nucleósido abásico invertido, y (s) representa un enlace fosforotioato, y

en donde los nucleósidos de dicha primera cadena comprenden un patrón de modificación de azúcar en 2' como sigue (5'-3'):

Me(s)F(s)(Me)₃ - F - Me - (F)₂ - (Me)₄ - (F - Me)₂ - (Me)₂ - F - Me(s)Me(s)Me.

Las modificaciones preferidas son las siguientes:

Patrón de modificación 1:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

Primera cadena (5'-3'): Me-F-Me-Me-Me-X₁-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me, en donde X₁ es una modificación térmicamente desestabilizante;

Patrón de modificación 2:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

Primera cadena (5'-3'): Me-F-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me;

Patrón de modificación 3:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

Primera cadena (5'-3'): Me-F-Me-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me;

Patrón de modificación 4:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

Primera cadena (5'-3'): Me-F-Me-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me;

Patrón de modificación 5:

Segunda cadena (5-3): ia-ia-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me.

Primeracadena(5'-3') Me-F-Me-Me-Me-X₁-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me, en donde X₁ es una modificación térmicamente desestabilizante;

O Patrón de modificación 6:

Segunda cadena (5-3'): la-la-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

Примера сабела (5'-3'): Me-F-Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me;

O Patrón de modificación 7:

Segunda cadena (5-3): ia-ia-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me.

Primeracadena(5'-3') Me-F-Me-Me-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-

Me;

10

O Patrón de modificación 8:

Segunda cadena (5-3°): Ia-Ia-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me.

Primeracadena(5'-3'): Me-F-Me-Me-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-F-Me-Me-Me

15 en donde ia representa un nucleósido abásico invertido.

Otras modificaciones preferidas son las siguientes:

Patrón de modificación 1:

20

Segunda cadena (5-3'): ia-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me.

Primeracadena(5'-3'): Me(s)F(s)Me-Me-Me-X₁-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me, en donde X₁ es una modificación térmicamente desestabilizante;

O Patrón de modificación 2:

Segunda cadena (5-3): ia-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me.

Primeracadena(5'-3'): Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me(s)
Me(s)Me;

25

O Patrón de modificación 3:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me

30

Primeracadena(5'-3'): Me(s)F(s)Me-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-F-Me-Me-Me(s)
Me(s)Me;

O Patrón de modificación 4:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-Me-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-F-Me(s)Me(s)Me;

O Patrón de modificación 5:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

5 Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-Me-Me-X₁-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me, en donde X₁ es una modificación térmicamente desestabilizante;

O Patrón de modificación 6:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

10 Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-F-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me;

O Patrón de modificación 7:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

15 Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-Me-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-Me(s)Me(s)Me;

O Patrón de modificación 8:

Segunda cadena (5'-3'): ia-ia-Me(s)Me(s)Me-Me-Me-Me-Me-Me-F-F-F-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me-Me,

20 Primera cadena (5'-3'): Me(s)F(s)Me-Me-Me-F-Me-F-F-Me-Me-Me-Me-F-Me-F-Me-Me-Me-F-Me(s)Me(s)Me;

en donde (s) es un enlace internucleosídico fosforotioato e ia representa un nucleósido abásico invertido.

Conjugación

Otra modificación del ácido nucleico, por ejemplo, ARN, por ejemplo, un ARNsi de la invención implica unir el ácido nucleico, por ejemplo, el ARNsi, a uno o más restos de ligando, por ejemplo, para potenciar la actividad, distribución celular o captación celular del ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, por ejemplo, en una célula.

En algunas realizaciones, el resto de ligando descrito puede unirse a un ácido nucleico, por ejemplo, un oligonucleósido de ARNsi, a través de un conector que puede ser escindible o no escindible. El término "conector" o "grupo conector" significa un resto orgánico que conecta dos partes de un compuesto, por ejemplo, una covalentemente dos partes de un compuesto.

El ligando puede unirse al extremo 3' o 5' de la cadena con sentido.

El ligando se conjuga preferiblemente con el extremo 3' de la cadena con sentido del ácido nucleico, por ejemplo, un agente de ARNsi.

Por lo tanto, la invención se refiere en un aspecto adicional a un conjugado para inhibir la expresión de un gen diana en una célula, comprendiendo dicho conjugado una porción de ácido nucleico y uno o más restos de ligando, comprendiendo dicha porción de ácido nucleico un ácido nucleico como se divulga en la presente memoria.

En un aspecto, la segunda cadena del ácido nucleico se conjuga directa o indirectamente (por ejemplo, a través de un conector) con uno o más restos de ligando, en donde dicho resto de ligando está presente típicamente en una región terminal de la segunda cadena, preferiblemente en la región 3' terminal de la misma.

En ciertas realizaciones, el resto de ligando comprende un GalNAc o derivado de GalNAc unido al ácido nucleico, por ejemplo, ARNdsi, a través de un conector.

5 Por lo tanto, la invención se refiere a un conjugado en donde el resto de ligando comprende

i) uno o más ligandos GalNAc; y/o

10 ii) uno o más derivados de ligando GalNAc; y/o

iii) uno o más ligandos GalNAc conjugados con dicho ácido nucleico a través de un conector.

Dicho ligando GalNAc puede conjugarse directa o indirectamente con la región 5' o 3' terminal de la segunda cadena del ácido nucleico, preferiblemente en la región 3' terminal de la misma.

15 Los ligandos GalNAc son bien conocidos en la técnica y se describen, entre otros, en, EP3775207A1.

En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en uno cualquiera de los conectores mostrados en las Figuras 1 a 4 o la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" puede ser cualquier ácido nucleico divulgado en la presente memoria. Por consiguiente, el "oligonucleótido" puede comprender otros enlaces distintos de un enlace fosfodiéster, tal como uno o más enlaces fosforotioato. Preferiblemente, el ácido nucleico según la invención es un oligonucleósido bicatenario como se define en la presente memoria y el conector se conjuga con la segunda cadena, más preferiblemente con la región 3' terminal de la segunda cadena, a través de un enlace fosfodiéster.

25 En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 3, en donde el "oligonucleótido" puede ser cualquier ácido nucleico divulgado en la presente memoria. Por consiguiente, el "oligonucleótido" puede comprender otros enlaces distintos de un enlace fosfodiéster, tal como uno o más enlaces fosforotioato. Preferiblemente, el ácido nucleico según la invención es un oligonucleósido bicatenario como se define en la presente memoria y el conector se conjuga con la segunda cadena, más preferiblemente con la región 3' terminal de la segunda cadena, a través de un enlace fosfodiéster.

30 En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" puede ser cualquier ácido nucleico divulgado en la presente memoria. Por consiguiente, el "oligonucleótido" puede comprender otros enlaces distintos de un enlace fosfodiéster, tal como uno o más enlaces fosforotioato. Preferiblemente, el ácido nucleico según la invención es un oligonucleósido bicatenario como se define en la presente memoria y el conector se conjuga con la segunda cadena, más preferiblemente con la región 3' terminal de la segunda cadena, a través de un enlace fosfodiéster.

40 En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en uno cualquiera de los conectores mostrados en las Figuras 1 a 4 o la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una segunda cadena modificada o no modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 265 o SEQ ID NO: 268, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de la SEQ ID NO: 265 o SEQ ID NO: 268, a través de un enlace fosfodiéster.

50 En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 3, en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una segunda cadena modificada o no modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 265 o SEQ ID NO: 268, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de la SEQ ID NO: 265 o SEQ ID NO: 268, a través de un enlace fosfodiéster.

55 En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una segunda cadena modificada o no modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 265 o SEQ ID NO: 268, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de la SEQ ID NO: 265 o SEQ ID NO: 268, a través de un enlace fosfodiéster.

60 En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en uno cualquiera de los enlazadores mostrados en las Figuras 1 a 4 o la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una segunda cadena modificada que comprende o consiste en SEQ ID NO: 774 o SEQ ID NO: 776, preferiblemente en donde el enlazador está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de SEQ ID NO: 774 o SEQ ID NO: 776, a través de un enlace fosfodiéster.

En algunas realizaciones, el ligando de GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 3, en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una segunda cadena modificada que comprende o consiste en SEQ ID NO: 774 o SEQ ID NO: 776, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de SEQ ID NO: 774 o SEQ ID NO: 776, a través de un enlace fosfodiéster.

En algunas realizaciones, el ligando de GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una segunda cadena modificada que comprende o consiste en SEQ ID NO: 774 o SEQ ID NO: 776, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de SEQ ID NO: 774 o SEQ ID NO: 776, a través de un enlace fosfodiéster.

En algunas realizaciones, el ligando de GalNAc está comprendido en uno cualquiera de los enlazadores mostrados en las Figuras 1 a 4 o la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 764 y una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 774, preferiblemente en donde el enlazador está conjugado a la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, a la región 3' terminal de la SEQ ID NO: 774, a través de un enlace fosfodiéster.

En algunas realizaciones, el ligando de GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 3, en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 764 y una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 774, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de la SEQ ID NO: 774, a través de un enlace fosfodiéster.

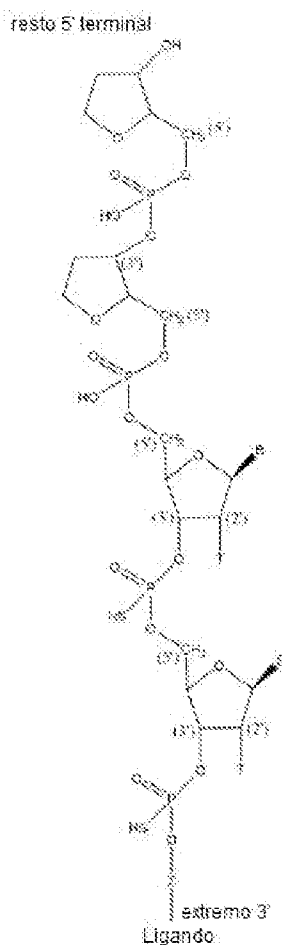
En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 764 y una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 774, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de la SEQ ID NO: 774, a través de un enlace fosfodiéster.

En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en uno cualquiera de los conectores mostrados en las Figuras 1 a 4 o la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 766 y una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 776, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de la SEQ ID NO: 776, a través de un enlace fosfodiéster.

En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 3, en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 766 y una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 776, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de la SEQ ID NO: 776, a través de un enlace fosfodiéster.

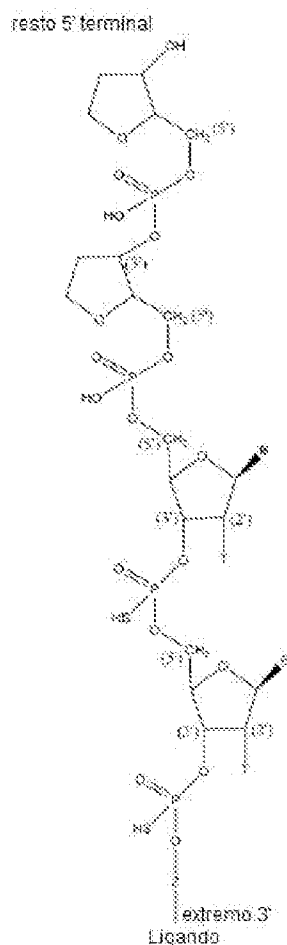
En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 766 y una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 776, preferiblemente en donde el conector está conjugado con la región 3' terminal de la segunda cadena, es decir, con la región 3' terminal de la SEQ ID NO: 776, a través de un enlace fosfodiéster.

En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 3, en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 764 y una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 774, en donde la segunda cadena tiene la siguiente estructura



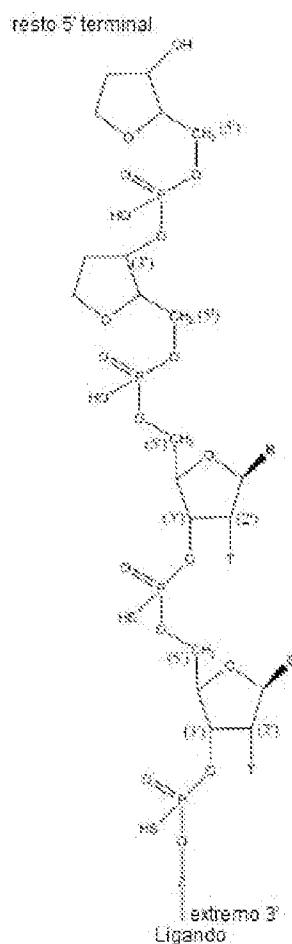
en donde:

- 5 T representa una modificación de ribosa 2'Me,
B representa las bases de nucleósidos de los dos primeros nucleósidos básicos en la región 5' terminal de la SEQ ID NO: 774, y
 - 10 Z representa los 19 nucleósidos básicos contiguos remanentes de la SEQ ID NO: 774.
- En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 764 y una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 774, en donde a segunda
- 15 cadena tiene la siguiente estructura



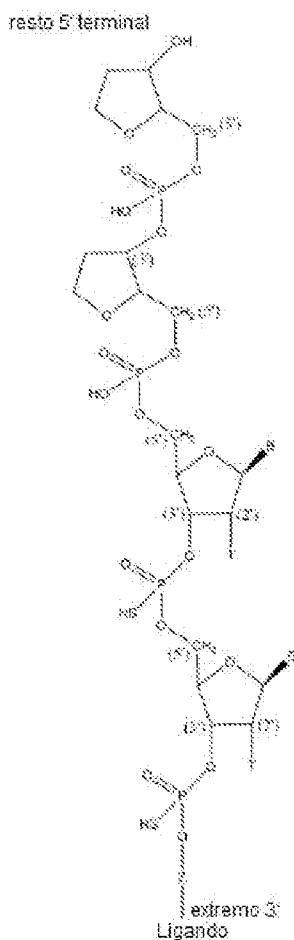
en donde:

- 5 T representa una modificación de ribosa 2'Me,
B representa las bases de nucleósidos de los dos primeros nucleósidos básicos en la región 5' terminal de la SEQ ID NO: 774, y
 - 10 Z representa los 19 nucleósidos básicos contiguos remanentes de la SEQ ID NO: 774.
- En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 3, en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 766 y
- 15 una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 776, en donde la segunda cadena tiene la siguiente estructura



en donde:

- 5 T representa una modificación de ribosa 2'Me,
 - B representa las bases de nucleósidos de los dos primeros nucleósidos básicos en la región 5' terminal de la SEQ ID NO: 776, y
 - 10 Z representa los 19 nucleósidos básicos contiguos remanentes de la SEQ ID NO: 776.
- En algunas realizaciones, el ligando GalNAc está comprendido en el conector mostrado en la Figura 5 (Fórmula XI), en donde el "oligonucleótido" representa un ácido nucleico según la invención, en donde el ácido nucleico según la invención comprende una primera cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 766 y una segunda cadena modificada que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 776, en donde la segunda
- 15 cadena tiene la siguiente estructura



en donde:

- 5 T representa una modificación de ribosa 2'Me,
- B representa las bases de nucleósidos de los dos primeros nucleósidos básicos en la región 5' terminal de la SEQ ID NO: 776, y
- 10 Z representa los 19 nucleósidos básicos contiguos remanentes de la SEQ ID NO: 776.

Vector y célula

- 15 En un aspecto, la divulgación proporciona una célula que contiene un ácido nucleico, tal como ARN inhibidor [ARNi] como se describe en la presente memoria.

En un aspecto, la divulgación proporciona una célula que comprende un vector como se describe en la presente memoria.

20 Composiciones farmacéuticamente aceptables

En un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica para inhibir la expresión de un gen diana, comprendiendo la composición un ácido nucleico como se divulga en la presente memoria.

- 25 La composición farmacéuticamente aceptable puede comprender un excipiente y o vehículo.

- Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, laurilsulfato de sodio y talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como
- 30

glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones tamponadas con pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; (22) agentes de carga, tales como polipéptidos y aminoácidos (23) componente sérico, tal como albúmina sérica, HDL y LDL; y (22) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

Los vehículos farmacéuticos típicos incluyen, pero no se limitan a, agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa, etc.); cargas (por ejemplo, lactosa y otros azúcares, celulosa microcristalina, pectina, gelatina, sulfato de calcio, etilcelulosa, poliacrilatos o hidrógenofosfato de calcio, etc.); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco, sílice, dióxido de silicio coloidal, ácido esteárico, estearatos metálicos, aceites vegetales hidrogenados, almidón de maíz, polietilenglicoles, benzoato de sodio, acetato de sodio, etc.); disgregantes (por ejemplo, almidón, glicolato de almidón de sodio, etc.); y agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio, etc.).

También se pueden usar excipientes orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables adecuados para administración no parenteral que no reaccionan perjudicialmente con ácidos nucleicos para formular las composiciones de la presente divulgación. Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, pero no se limitan a, agua, soluciones salinas, alcoholes, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidona y similares.

Las formulaciones para la administración tópica de ácidos nucleicos pueden incluir soluciones acuosas estériles y no estériles, soluciones no acuosas en disolventes comunes tales como alcoholes, o soluciones de los ácidos nucleicos en bases oleosas líquidas o sólidas. Las soluciones pueden contener también tampones, diluyentes y otros aditivos adecuados. Se pueden usar excipientes orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables adecuados para administración no parenteral que no reaccionan perjudicialmente con ácidos nucleicos.

En una realización, el ácido nucleico o la composición se administra en una solución no tamponada. En ciertas realizaciones, la solución no tamponada es solución salina o agua. En otras realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, el agente de ARNsi, se administra en una solución tamponada. En tales realizaciones, la solución tampón puede comprender acetato, citrato, prolamina, carbonato o fosfato, o cualquier combinación de los mismos. Por ejemplo, la solución tampón puede ser solución salina tamponada con fosfato (PBS).

Dosificaciones

Las composiciones farmacéuticas de la divulgación pueden administrarse en dosificaciones suficientes para inhibir la expresión de un gen. En general, una dosis adecuada de un ácido nucleico, por ejemplo, un ARNsi de la divulgación estará en el rango de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 200,0 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor al día, generalmente en el rango de aproximadamente 1 a 50 mg por kilogramo de peso corporal al día. Típicamente, una dosis adecuada de un ácido nucleico, por ejemplo, un ARNsi de la divulgación estará en el rango de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 5,0 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 0,3 mg/kg y aproximadamente 3,0 mg/kg.

Un régimen de dosis repetidas puede incluir la administración de una cantidad terapéutica de un ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, de manera regular, tal como en días alternos o una vez al año. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, se administra de aproximadamente una vez al mes a aproximadamente una vez al trimestre (es decir, aproximadamente una vez cada tres meses).

En diversas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, el agente de ARNsi, se administra a una dosis de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg o de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg. En algunas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, el agente de ARNsi, se administra a una dosis de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, el agente de ARNsi, se administra a una dosis seleccionada de aproximadamente 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 1,5 mg/kg, 3 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg y 30 mg/kg. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, el agente, se administra aproximadamente una vez a la semana, una vez al mes, una vez cada dos meses, o una vez al trimestre (es decir, una vez cada tres meses) a una dosis de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 5,0 mg/kg. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, el agente de ARNsi, se administra al sujeto una vez a la semana. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, el agente de ARNsi, se administra al sujeto una vez al mes. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico, por ejemplo, el agente de ARNsi, se administra una vez al trimestre (es decir, cada tres meses).

Después de un régimen de tratamiento inicial, los tratamientos pueden administrarse de manera menos frecuente. Por ejemplo, después de la administración semanal o bisemanal durante tres meses, la administración puede repetirse una vez al mes, durante seis meses o un año; o más.

La composición farmacéutica puede administrarse una vez al día, o administrarse como dos, tres o más subdosis a intervalos apropiados a lo largo del día o incluso usando infusión o suministro continuo a través de una formulación de liberación controlada. En ese caso, el ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi contenido en cada subdosis debe ser correspondientemente menor con el fin de lograr la dosificación diaria total. La unidad de dosificación también puede combinarse para su administración durante varios días, por ejemplo, usando una formulación de liberación sostenida convencional que proporciona liberación sostenida del ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, durante un periodo de varios días. Las formulaciones de liberación sostenida son bien conocidas en la técnica y son particularmente útiles para la administración de agentes en un sitio particular, tal como podría usarse con los agentes de la presente invención. En esta realización, la unidad de dosificación contiene un múltiplo correspondiente de la dosis diaria.

En otras realizaciones, una dosis única de las composiciones farmacéuticas puede ser de larga duración, de manera que las dosis posteriores se administran a intervalos de no más de 3, 4 o 5 días, o a intervalos de no más de 1, 2, 3 o 4 semanas. En algunas realizaciones de la invención, una dosis única de las composiciones farmacéuticas de la invención se administra una vez a la semana. En otras realizaciones de la invención, una dosis única de las composiciones farmacéuticas de la invención se administra bimensualmente. En ciertas realizaciones, el ARNsi se administra de aproximadamente una vez al mes a aproximadamente una vez al trimestre (es decir, aproximadamente una vez cada tres meses), o incluso cada 6 meses o 12 meses.

Las estimaciones de las dosificaciones eficaces y las semividas in vivo para el ácido nucleico individual, por ejemplo, los ARNsi abarcados por la invención, pueden realizarse usando metodologías convencionales o basándose en ensayos in vivo usando un modelo animal apropiado, tal como se conoce en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse de varias maneras dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y del área a tratar. La administración puede ser tópica {por ejemplo, mediante un parche transdérmico), pulmonar, por ejemplo, mediante inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluyendo mediante nebulizador; intratraqueal, intranasal, epidérmica y transdérmica, oral o parenteral. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; subdérmica, por ejemplo, a través de un dispositivo implantado; o intracraneal, por ejemplo, mediante administración intraparenquimal, intratecal o intraventricular. En ciertas realizaciones preferidas, las composiciones se administran por infusión o inyección intravenosa. En ciertas realizaciones, las composiciones se administran por inyección subcutánea.

En una realización, el ácido nucleico, por ejemplo, un agente, se administra al sujeto por vía subcutánea.

El ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, puede administrarse de manera que se dirija a un tejido particular (por ejemplo, en células hepáticas particulares).

Métodos para inhibir la expresión del gen ZPI

La presente divulgación también proporciona métodos para inhibir la expresión del gen ZPI en una célula. Dichos métodos no forman parte de la invención reivindicada. Los métodos incluyen poner en contacto una célula con un ácido nucleico de la divulgación, por ejemplo, un agente de ARNsi, tal como un agente de ARNsi bicatenario, en una cantidad eficaz para inhibir la expresión del gen ZPI en la célula, inhibiendo así la expresión del gen ZPI en la célula. Debe observarse que un ácido nucleico "para inhibir la expresión de ZPI" es un ácido nucleico que es capaz de inhibir la expresión de ZPI, preferiblemente como se describe en la presente memoria más adelante.

El contacto de una célula con el ácido nucleico, por ejemplo, un ARNsi, tal como un agente de ARNsi bicatenario, puede realizarse in vitro o in vivo. Dicho contacto de una célula con el ácido nucleico no es parte de la invención reivindicada. El contacto de una célula in vivo con ácido nucleico, por ejemplo, incluye poner en contacto una célula o grupo de células dentro de un sujeto, por ejemplo, un sujeto humano, con el ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi. También son posibles combinaciones de métodos in vitro e in vivo para poner en contacto una célula. El contacto de una célula puede ser directo o indirecto, como se ha analizado anteriormente. Además, el contacto de una célula puede conseguirse mediante un resto de ligando de direccionamiento, incluyendo cualquier resto de ligando descrito en la presente memoria o conocido en la técnica. En realizaciones preferidas, el resto de ligando de direccionamiento es un resto de carbohidrato, por ejemplo, un ligando GalNAc3, o cualquier otro resto de ligando que dirija el agente de ARNsi a un sitio de interés.

El término "inhibir", como se usa en la presente memoria, se usa indistintamente con "reducir", "silenciar", "regular a la baja", "suprimir" y otros términos similares, e incluye cualquier nivel de inhibición.

En algunas realizaciones de los métodos de la divulgación, la expresión del gen ZPI se inhibe en al menos el 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, o por debajo del nivel de detección del ensayo, preferiblemente cuando se determina por qPCR como se describe en la presente memoria y/o cuando el ARNsi se introduce en la célula diana por transfección. En ciertas realizaciones, los métodos incluyen una inhibición clínicamente relevante de la expresión del gen diana de ZPI, por ejemplo,

como se demuestra por un resultado clínicamente relevante después del tratamiento de un sujeto con un agente para reducir la expresión del gen.

En algunas realizaciones, cuando se transfecta en las células, el ácido nucleico de la invención inhibe la expresión del gen ZPI con un valor de CI50 inferior a 2.500 pM, 2.400 pM, 2.300 pM, 2.200 pM, 2.100 pM, 2.000 pM, 1.900 pM, 1.800 pM, 1.700 pM, 1.600 pM, 1.500 pM, 1.400 pM, 1.300 pM, 1.200 pM, 1.100 pM, 1.000 pM, 900 pM, 800 pM, 700 pM, 600 pM, 500 pM, 400 pM, 300 pM, 200 pM o 100 pM, preferiblemente cuando se determina por qPCR, más preferiblemente por transcriptasa inversa (RT)-qPCR, como se describe en la presente memoria.

En una realización preferida, cuando se transfecta en las células, el ácido nucleico de la invención inhibe la expresión del gen ZPI con un valor de CI50 inferior a 2.500 pM. En una realización más preferida, cuando se transfecta en las células, el ácido nucleico de la invención inhibe la expresión del gen ZPI con un valor de CI50 inferior a 1.000 pM. En una realización aún más preferida, cuando se transfecta en las células, el ácido nucleico de la invención inhibe la expresión del gen ZPI con un valor de CI50 inferior a 500 pM. En una realización lo más preferida, cuando se transfecta en las células, el ácido nucleico de la invención inhibe la expresión del gen ZPI con un valor de CI50 inferior a 100 pM.

La inhibición de la expresión del gen ZPI puede cuantificarse mediante el siguiente método:

Las células Huh7 (línea celular derivada de hepatocitos humanos, obtenida del banco de células JCRB) se pueden mantener en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con FBS al 10 % a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %. Las células pueden transfectarse después con dúplex de ARNsi dirigidos al ARNm de ZPI o un ARNsi de control negativo (control de ARNsi; cadena con sentido 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3' (SEQ ID NO: 794), cadena antisentido 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAAT-3' (SEQ ID NO: 790)) usando diluciones en serie de 10x3 veces a lo largo de un rango de concentración de dúplex final de 20 nM a 1 pM. La transfección se puede llevar a cabo añadiendo 9,7 µl de Opti-MEM (ThermoFisher) más 0,3 µl de Lipofectamina RNAiMAX (ThermoFisher) a 10 µl de cada dúplex de ARNsi. La mezcla puede incubarse a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de añadirse a 100 µl de medio de crecimiento completo que contiene 20.000 células Huh7. Las células pueden incubarse durante 24 horas a 37 °C/CO₂ al 5 % antes de la purificación del ARN total usando un kit RNeasy 96 (Qiagen). Cada dúplex puede ensayarse por transfección en pocillos duplicados en un único experimento.

La síntesis de ADNc puede realizarse usando el kit FastQuant RT (con gADNasa) (Tiangen). La PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) se puede realizar en un ABI Prism 7900HT o ABI QuantStudio 7 con cebadores específicos para ZPI humano (Hs01547819_m1) y GAPDH humana (Hs02786624_g1) usando el kit Maestro de Sonda Universal FastStart (Roche).

La qPCR se puede realizar por duplicado en el ADNc derivado de cada pocillo y calcular el umbral medio del ciclo (Ct). La expresión relativa de ZPI puede calcularse a partir de valores medios de Ct usando el método comparativo de Ct ($\Delta\Delta Ct$), normalizado para GAPDH y con respecto a células no tratadas. El porcentaje máximo de inhibición de la expresión de ZPI y los valores de CI50 se pueden calcular usando un modelo de cuatro parámetros (pendiente variable) usando GraphPad Prism 9.

Alternativamente, o además, la inhibición de la expresión del gen ZPI puede caracterizarse por una reducción de la expresión relativa media del gen ZPI.

En algunas realizaciones, cuando las células se transfectan con 0,1 nM del ácido nucleico de la invención, la expresión relativa media de ZPI es inferior a 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5 o 0,4, preferiblemente cuando se determina por qPCR, más preferiblemente por transcriptasa inversa (RT)-qPCR, como se describe en la presente memoria.

En algunas realizaciones, cuando las células se transfectan con 5 nM del ácido nucleico de la invención, la expresión relativa media de ZPI es inferior a 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4 o 0,3, preferiblemente cuando se determina por qPCR, más preferiblemente por transcriptasa inversa (RT)-qPCR, como se describe en la presente memoria.

La expresión relativa media del gen ZPI puede cuantificarse mediante el siguiente método:

Las células Huh7 (línea celular derivada de hepatocitos humanos, obtenida del banco de células JCRB) se pueden mantener en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con FBS al 10 % a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %. Las células pueden transfectarse con dúplex de ARNsi dirigidos al ARNm de ZPI o un ARNsi de control negativo (control de ARNsi; cadena con sentido 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3' (SEQ ID NO: 794), cadena antisentido 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAAT-3' (SEQ ID NO: 790)) a una concentración de dúplex final de 5 nM y 0,1 nM. La transfección se puede llevar a cabo añadiendo 9,7 µl de Opti-MEM (ThermoFisher) más 0,3 µl de Lipofectamina RNAiMAX (ThermoFisher) a 10 µl de cada dúplex de ARNsi. La mezcla puede incubarse a

temperatura ambiente durante 15 minutos antes de añadirse a 100 µl de medio de crecimiento completo que contiene 20.000 células Huh7. Las células pueden incubarse durante 24 horas a 37 °C/CO₂ al 5 % antes de la purificación del ARN total usando un kit RNeasy 96 (Qiagen). Cada dúplex puede ensayarse por transfección en pocillos duplicados en dos experimentos independientes.

La síntesis de ADNc puede realizarse usando el kit FastQuant RT (con gADNasa) (Tiangen). La PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) se puede realizar en un ABI Prism 7900HT o ABI QuantStudio 7 con cebadores específicos para ZPI humano (Hs01547819_m1) y GAPDH humana (Hs02786624_g1) usando el kit Maestro de Sonda Universal FastStart (Roche).

La qPCR se puede realizar por duplicado en el ADNc derivado de cada pocillo y calcular el Ct medio. La expresión relativa de ZPI puede calcularse a partir de valores medios de Ct usando el método comparativo de Ct ($\Delta\Delta Ct$), normalizado para GAPDH y con respecto a células no tratadas.

La inhibición de la expresión del gen ZPI puede manifestarse por una reducción de la cantidad de ARNm del gen ZPI diana en comparación con un control adecuado.

En otras realizaciones, la inhibición de la expresión del gen ZPI puede evaluarse en términos de una reducción de un parámetro que está funcionalmente ligado a la expresión del gen, por ejemplo, la expresión de proteínas o rutas de señalización.

Métodos para tratar o prevenir enfermedades asociadas con la expresión del gen ZPI

La presente divulgación también proporciona métodos de uso de ácido nucleico, por ejemplo, un ARNsi de la divulgación o una composición que contiene ácido nucleico, por ejemplo, un ARNsi de la divulgación para reducir o inhibir la expresión del gen ZPI en una célula. Los métodos incluyen poner en contacto la célula con un ácido nucleico, por ejemplo, ARNdsi de la divulgación y mantener la célula durante un tiempo suficiente para obtener la degradación del transcrito de ARNm de ZPI, inhibiendo así la expresión del gen ZPI en la célula. La reducción en la expresión génica puede evaluarse mediante cualquier método conocido en la técnica.

En los métodos de la divulgación, la célula puede ponerse en contacto in vitro o in vivo, es decir, la célula puede estar dentro de un sujeto. Dichos métodos no forman parte de la invención reivindicada.

Una célula adecuada para el tratamiento usando los métodos de la divulgación puede ser cualquier célula que exprese un gen de interés asociado con una enfermedad relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como una enfermedad relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como hemofilia.

Los métodos in vivo de la divulgación pueden incluir administrar a un sujeto una composición que contiene un ácido nucleico de la invención, por ejemplo, un ARNsi, donde el ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, incluye una secuencia de nucleósidos que es complementaria a al menos una parte de un transcrito de ARN del gen ZPI del mamífero que se va a tratar.

La presente divulgación proporciona además métodos de tratamiento de un sujeto que lo necesita. Los métodos de tratamiento de la divulgación incluyen administrar un ácido nucleico tal como un ARNsi de la divulgación a un sujeto, por ejemplo, un sujeto que se beneficiaría de una reducción o inhibición de la expresión del gen ZPI, en una cantidad terapéuticamente eficaz, por ejemplo, un ácido nucleico tal como un ARNsi que se dirige a ZPI o una composición farmacéutica que comprende el ácido nucleico que se dirige a ZPI. La enfermedad a tratar está relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como una enfermedad relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como hemofilia.

La hemofilia, o hemofilia, es un trastorno genético heredado en su mayoría que perjudica la capacidad del cuerpo para hacer coágulos de sangre, un proceso necesario para detener el sangrado. Esto da como resultado que los sujetos sangren durante un tiempo más largo después de una lesión, con aparición frecuente de hematomas y se aumenta el riesgo de sangrado dentro de las articulaciones o el cerebro. Los sujetos con un caso leve de la enfermedad pueden tener síntomas solo después de un accidente o durante la cirugía. El sangrado en una articulación, también denominada hemartrosis, puede dar como resultado un daño permanente mientras que el sangrado en el cerebro puede dar como resultado cefaleas a largo plazo, convulsiones o un nivel disminuido de conciencia.

Existen dos tipos principales de hemofilia: hemofilia A, que se produce debido a bajas cantidades del factor de coagulación VIII, y hemofilia B, que se produce debido a bajos niveles del factor de coagulación IX. Típicamente, se heredan de los padres a través de un cromosoma X que lleva un gen no funcional. Raramente puede producirse una nueva mutación durante el desarrollo temprano o la hemofilia puede desarrollarse más tarde en la vida debido a anticuerpos que se forman contra un factor de coagulación. Otros tipos incluyen hemofilia C, que se produce debido a bajos niveles del factor XI, enfermedad de Von Willebrand, que se produce debido a bajos niveles de una sustancia llamada factor de von Willebrand, y parahemofilia, que se produce debido a

bajos niveles del factor V. Las hemofilias A, B y C evitan que la ruta intrínseca funcione correctamente; esta ruta de coagulación es necesaria cuando hay daños en el endotelio de un vaso sanguíneo. La hemofilia adquirida está asociada con cánceres, trastornos autoinmunitarios y embarazo. El diagnóstico es ensayando la sangre en cuanto a su capacidad para coagular y sus niveles de factores de coagulación.

En ciertas realizaciones, el ácido nucleico de la presente invención es adecuado para el tratamiento, o para el tratamiento de la hemofilia A, B y/o C. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico de la presente invención es adecuado para el tratamiento, o para el tratamiento de la hemofilia A y/o B. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico de la presente invención es adecuado para el tratamiento, o para el tratamiento de la hemofilia adquirida. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico de la presente invención es adecuado para el tratamiento, o para el tratamiento de la enfermedad de Willebrand. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico de la presente invención es adecuado para el tratamiento, o para el tratamiento de la parahemofilia.

Sin desear estar limitado por la teoría, el tratamiento con el ácido nucleico de la invención da como resultado un refuerzo de los niveles de factores de coagulación de manera que el sangrado puede reducirse o prevenirse, como se demuestra en la presente memoria en la Fig. 12. Por tanto, en una realización preferida, el tratamiento con el ácido nucleico de la invención reduce o previene episodios de sangrado en un sujeto que padece de hemofilia. En otra realización preferida, el tratamiento con el ácido nucleico de la invención reduce o previene el sangrado en una articulación de un sujeto que padece de hemofilia. En ciertas realizaciones, el tratamiento con el ácido nucleico de la invención reduce o previene el sangrado en un músculo o en el cerebro de un sujeto que padece de hemofilia.

Alternativamente, o además, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención puede dar como resultado uno o más de los siguientes:

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado hiperplasia de la médula ósea reducida. Como se muestra en la Fig. 14A, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la hiperplasia de la médula ósea en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado osteoartritis reducida. Como se muestra en la Fig. 14B, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la osteoartritis en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado una degeneración/necrosis de condrocitos reducida. Como se muestra en la Fig. 14C, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la degeneración/necrosis de condrocitos en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado hemorragia reducida. Como se muestra en la Fig. 14D, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la hemorragia en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado deposición reducida de hemosiderina. Como se muestra en la Fig. 14E, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la deposición de hemosiderina en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado una reducción de la aparición de hematomas. Como se muestra en la Fig. 14F, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente los hematomas en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado una resorción ósea osteoclastogénica reducida. Como se muestra en la Fig. 14G, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la resorción ósea osteoclastogénica en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado una osteólisis reducida. Como se muestra en la Fig. 14H, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la osteólisis en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado periostitis reducida. Como se muestra en la Fig. 14I, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la periostitis en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado esclerosis ósea subcondral reducida. Como se muestra en la Fig. 14J, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la esclerosis ósea subcondral en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado una degeneración tendinosa reducida. Como se muestra en la Fig. 14K, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la degeneración tendinosa en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado tendinitis reducida. Como se muestra en la Fig. 14L, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la tendinitis en dichos ratones.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un sujeto, preferiblemente un sujeto que tiene un trastorno de hemostasia, tal como hemofilia, con el ácido nucleico de la invención da como resultado una tenosinovitis reducida. Como se muestra en la Fig. 14M, el tratamiento de ratones Haem A con un ácido nucleico de la invención redujo significativamente la tenosinovitis en dichos ratones.

Por lo tanto, en una realización particular, la invención se refiere a un ácido nucleico adecuado para su uso, o para su uso, en el tratamiento de hemofilia, en donde el tratamiento de hemofilia se caracteriza por sangrado reducido y uno o más de: hiperplasia de médula ósea reducida, osteoartritis reducida, degeneración/necrosis de condrocitos reducida, hemorragia reducida, deposición de hemosiderina reducida, hematoma reducido, resorción ósea osteoclastogénica reducida, osteólisis reducida, periostitis reducida, esclerosis ósea subcondral reducida, degeneración tendinosa reducida, tendinitis reducida y/o tenosinovitis reducida. Un ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi de la invención, puede administrarse como un ácido nucleico "libre" o ARNsi "libre", administrado en ausencia de una composición farmacéutica. El ácido nucleico desnudo puede estar en una solución tampón adecuada. La solución tampón puede comprender acetato, citrato, prolamina, carbonato o fosfato, o cualquier combinación de los mismos. En una realización, la solución tampón es solución salina tamponada con fosfato (PBS). El pH y la osmolaridad de la solución tampón se pueden ajustar de manera que sea adecuada para su administración a un sujeto.

Alternativamente, un ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi de la invención, puede administrarse como una composición farmacéutica, tal como una formulación liposómica de ARNdsi.

En una realización, el método incluye administrar una composición caracterizada en la presente memoria de manera que la expresión del gen ZPI disminuye, tal como durante aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 16, 18, 24 horas, 28, 32 o aproximadamente 36 horas. En una realización, la expresión del gen diana ZPI disminuye durante un periodo prolongado, por ejemplo, al menos aproximadamente dos, tres, cuatro días o más, por ejemplo, aproximadamente una semana, dos semanas, tres semanas o cuatro semanas o más, por ejemplo, aproximadamente 1 mes, 2 meses o 3 meses.

A los sujetos se les puede administrar una cantidad terapéutica de ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, tal como de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, para tratar una enfermedad relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como una enfermedad relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como hemofilia.

El ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, puede administrarse mediante infusión intravenosa durante un periodo de tiempo, de manera regular. En ciertas realizaciones, después de un régimen de tratamiento inicial, los tratamientos pueden administrarse de manera menos frecuente. La administración del ARNsi puede reducir los niveles de producto génico del gen diana ZPI, por ejemplo, en una célula o tejido del paciente en al menos aproximadamente un 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, o por debajo del nivel de detección del método de ensayo usado. En ciertas realizaciones, la administración da como resultado la estabilización clínica o preferiblemente la reducción clínicamente relevante de al menos un signo o síntoma de un trastorno asociado al gen ZPI.

Alternativamente, el ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, puede administrarse por vía subcutánea, es decir, mediante inyección subcutánea. Se pueden usar una o más inyecciones para administrar la dosis diaria deseada de ácido nucleico, por ejemplo, ARNsi, a un sujeto. Las inyecciones pueden repetirse durante un periodo de tiempo. La administración puede repetirse de manera regular. En ciertas realizaciones, después de un régimen de tratamiento inicial, los tratamientos pueden administrarse de manera menos frecuente. Un

régimen de dosis repetida puede incluir la administración de una cantidad terapéutica de ácido nucleico de forma regular, tal como en días alternos o una vez al año. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico se administra de aproximadamente una vez al mes a aproximadamente una vez al trimestre (es decir, aproximadamente una vez cada tres meses).

Ejemplos

La invención se entenderá más completamente por referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención. Se entiende que los ejemplos y realizaciones descritos en la presente memoria son solo con fines ilustrativos y que diversas modificaciones o cambios a la luz de los mismos se sugerirán a los expertos en la técnica y deben incluirse dentro del alcance de esta solicitud y alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1: Síntesis de la ligadura 1

Condiciones experimentales generales:

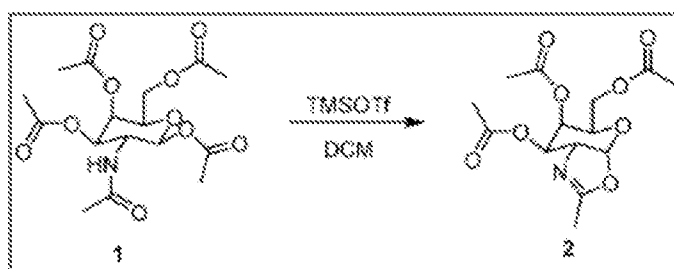
Se realizó cromatografía en capa fina (TLC) en placas de aluminio recubiertas de sílice con indicador de fluorescencia 254 nm de Macherey-Nagel. Los compuestos se visualizaron bajo luz UV (254 nm), o después de pulverizar con H_2SO_4 al 5 % en metanol (MeOH) o reactivo de ninhidrina según Stahl (de Sigma-Aldrich), seguido de calentamiento. La cromatografía ultrarrápida se realizó con un instrumento de cromatografía ultrarrápida Biotage Isolera One equipado con un detector de longitud de onda UV variable doble (200-400 nm) usando columnas de 10, 25, 50 o 100 g de sílice Biotage Sfär (Uppsala, Suecia).

Todas las reacciones sensibles a la humedad se llevaron a cabo en condiciones anhidras usando cristalería seca, disolventes anhidros y atmósfera de argón. Todos los reactivos disponibles comercialmente se adquirieron en Sigma-Aldrich y los disolventes en Carl Roth GmbH + Co. KG. El pentaacetato de D-galactosamina se adquirió en AK scientific.

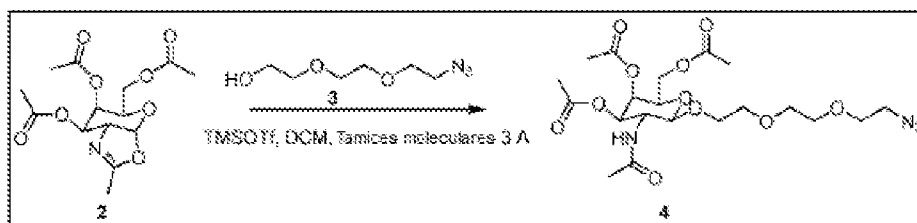
La HPLC/ESI-MS se realizó en un sistema de UHPLC Dionex UltiMate 3000 RS y un espectrómetro de masas Thermo Scientific MSQ Plus usando una columna Acquity UPLC Protein BEH C4 de Waters (300 Å, 1,7 μm , 2,1 x 100 mm) a 60 °C. El sistema disolvente consistía en disolvente A con H_2O que contenía ácido fórmico al 0,1 % y disolvente B con acetonitrilo (ACN) que contenía ácido fórmico al 0,1 %. Se empleó un gradiente de 5-100 % de B durante 15 min con un caudal de 0,4 ml/min. Detector y condiciones: Detección de aerosol ultracargado en corona (de esa). Temp. del nebulizador: 25 °C. Presión de N_2 : 35,1 psi. Filtro: Corona.

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se registraron a temperatura ambiente en un espectrómetro Varian a 500 MHz (^1H RMN) y 125 MHz (^{13}C RMN). Los desplazamientos químicos se dan en ppm con referencia al pico residual del disolvente (CDCl_3 - ^1H RMN: δ a 7,26 ppm y ^{13}C RMN δ a 77,2 ppm; $\text{DMSO}-d_6$ - ^1H RMN: δ a 2,50 ppm y ^{13}C RMN δ a 39,5 ppm). Las constantes de acoplamiento se dan en hercios. Los patrones de división de señal se describen como singlete (s), doblete (d), triplete (t) o multiplete (m).

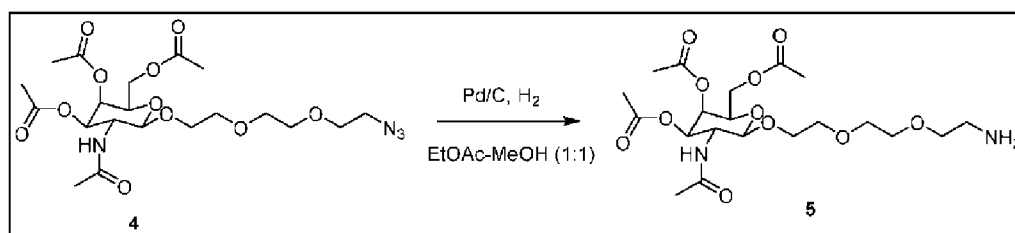
Ruta de síntesis para el bloque de construcción del conjugado TriGalNAc_Ligadura 1:



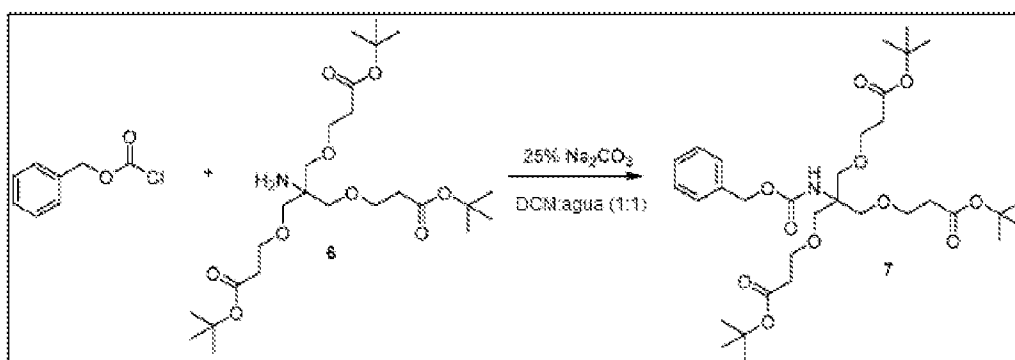
Preparación del compuesto 2: Se disolvió pentaacetato de D-galactosamina (3,00 g, 7,71 mmoles, 1,0 eq.) en diclorometano anhidro (DCM) (30 ml) en argón y se añadió trifluorometanosulfonato de trimetilsililo (TMSOTf, 4,28 g, 19,27 mmoles, 2,5 eq.). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml) y se lavó con NaHCO_3 ac. saturado frío (100 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para rendir el compuesto del título como un aceite amarillo, que se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: MeOH al 0-10 % en DCM en 10 VC). El producto se obtuvo como un aceite incoloro (2,5 g, 98 %, r_f = 0,45 (MeOH al 2 % en DCM)).



Preparación del compuesto 4: El compuesto 2 (2,30 g, 6,98 mmoles, 1,0 eq.) y azido-PEG3-OH (1,83 g, 10,5 mmoles, 1,5 eq.) se disolvieron en DCM anhidro (40 ml) en argón y se añadieron tamices moleculares 3 Å (5 g) a la solución. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después, se añadió TMSOTf (0,77 g, 3,49 mmoles, 0,5 equiv.) a la mezcla y la reacción se agitó toda la noche. Los tamices moleculares se filtraron, el filtrado se diluyó con DCM (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. saturado frío (100 mL) y agua (100 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se eliminó a presión reducida. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: MeOH al 0-3 % en DCM en 10 VC) para rendir el producto del título como un aceite amarillo claro (3,10 g, 88 %, *r_f* = 0,25 (MeOH al 2 % en DCM)). MS: calculado para C₂₀H₃₂N₄O₁₁, 504,21. Encontrado 505,4. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 6,21-6,14 (m, 1H), 5,30 (dd, *J* = 3,4, 1,1 Hz, 1H), 5,04 (dd, *J* = 11,2, 3,4 Hz, 1H), 4,76 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 4,23-4,08 (m, 3H), 3,91-3,80 (m, 3H), 3,74-3,59 (m, 9H), 3,49-3,41 (m, 2H), 2,14 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,97 (d, *J* = 4,2 Hz, 6H). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 170,6 (C), 170,5 (C), 170,4 (C), 170,3 (C), 102,1 (CH), 71,6 (CH), 70,8 (CH), 70,6 (CH), 70,5 (CH), 70,3 (CH₂), 69,7 (CH₂), 68,5 (CH₂), 66,6 (CH₂), 61,5 (CH₂), 23,1 (CH₃), 20,7 (3xCH₃).

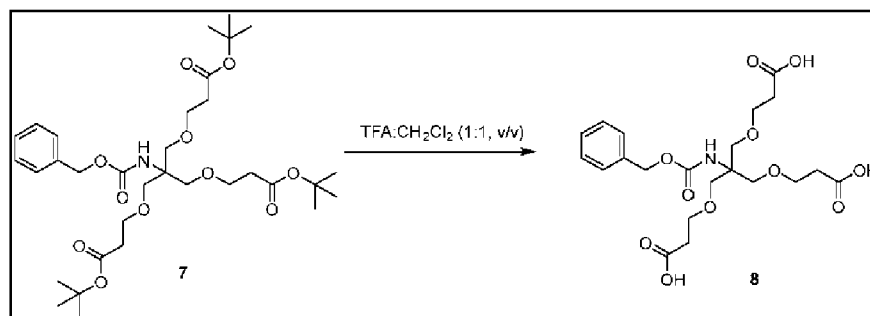


Preparación del compuesto 5: El compuesto 4 (1,00 g, 1,98 mmoles, 1,0 eq.) se disolvió en una mezcla de acetato de etilo (EtOAc) y MeOH (30 ml 1:1 v/v) y se añadió Pd/C (100 mg). La mezcla de reacción se desgasificó usando ciclos de vacío/argón (3x) y se hidrogenó a presión de globo durante la noche. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y se lavó con EtOAc (30 ml). El disolvente se eliminó bajo presión reducida para rendir el compuesto del título como un aceite incoloro (0,95 g, rendimiento cuantitativo, *r_f* = 0,25 (MeOH al 10 % en DCM)). El compuesto se usó sin purificación adicional. MS: calculado para C₂₀H₃₄N₂O₁₁, 478,2. Encontrado 479,4.

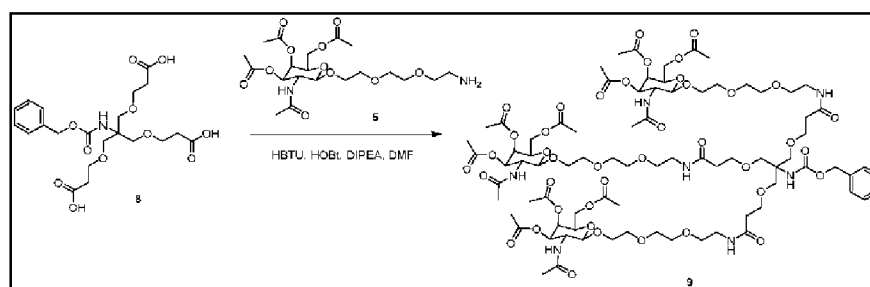


Preparación del compuesto 7: Se disolvió tris[[2-(terc-butoxicarbonil)etoxi]metil]-metilamina 6 (3,37 g, 6,67 mmoles, 1,0 eq.) en una mezcla de DCM/agua (40 ml 1:1 v/v) y se añadió Na₂CO₃ (0,18 g, 1,7 mmoles, 0,25 eq.) mientras se agitaba vigorosamente. Se añadió gota a gota clorformiato de bencilo (2,94 ml, 20,7 mmoles, 3,10 equiv.) a la mezcla previa y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (100 ml) y se lavó con agua (100 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el material en bruto resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: EtOAc al 0-10 % en ciclohexano en 12 VC) para rendir el compuesto del título como un aceite amarillento pálido (3,9 g, 91 %, *r_f* = 0,56 (EtOAc al 10 % en ciclohexano)). MS: calculado para C₃₃H₅₃N₃O₁₁, 639,3. Encontrado 640,9. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,38-7,26 (m, 5H), 4,97 (s, 2H), 3,54 (t, 6H), 3,50 (s, 6H), 2,38 (t, 6H), 1,39 (s, 27H). ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170,3 (3xC), 154,5 (C), 137,1 (C), 128,2 (2xCH), 127,7 (CH), 127,6 (2xCH), 79,7 (3xC), 68,4 (3xCH₂), 66,8 (3xCH₂), 64,9

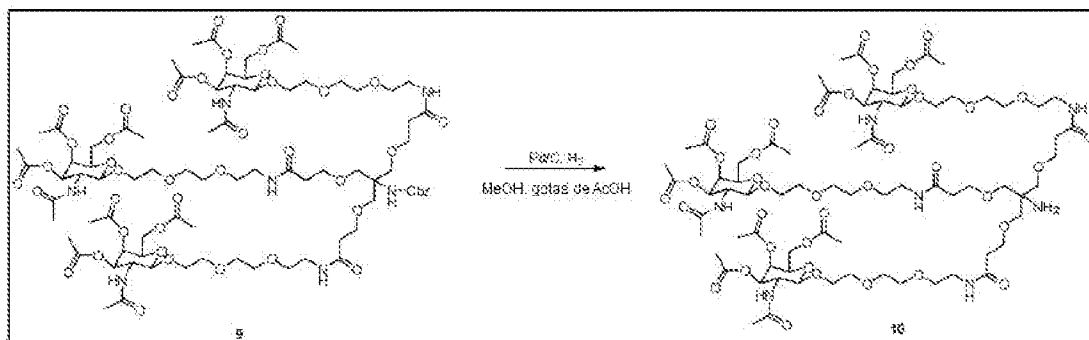
(C), 58,7 (CH₂), 35,8 (3xCH₂), 27,7 (9xCH₃).



Preparación del compuesto 8: Se disolvió Cbz-NH-tris-Boc-éster 7 (0,20 g, 0,39 mmoles, 1,0 equiv.) en CH₂Cl₂ (1 mL) bajo argón, se añadió ácido trifluoroacético (TFA, 1 mL) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se eliminó bajo presión reducida, el residuo se coevaporó 3 veces con tolueno (5 mL) y se secó a alto vacío para obtener el compuesto como su sal de TFA (0,183 g, 98 %). El compuesto se usó sin purificación adicional. MS: calculado para C₂₁H₂₉NO₁₁, 471,6. Encontrado 472,4.

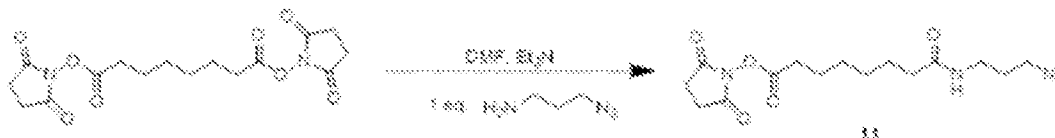


Preparación del compuesto 9: Se disolvieron CbzNH-tris-COOH 8 (0,72 g, 1,49 mmoles, 1,0 eq.) y GalNAc-PEG3-NH₂ 5 (3,56 g, 7,44 mmoles, 5,0 eq.) en *N,N*-dimetilformamida (DMF) (25 ml). A continuación, se añadieron hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(1H-benzotriazol-1-il)uronio (HBTU) (2,78 g, 7,44 mmoles, 5,0 eq.), hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) (1,05 g, 7,44 mmoles, 5,0 eq.) y *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) (2,07 ml, 11,9 mmoles, 8,0 eq.) a la solución y la reacción se agitó durante 72 h. El disolvente se eliminó bajo presión reducida, el residuo se disolvió en DCM (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. saturado (100 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, el disolvente se evaporó y el material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: MeOH al 0-5 % en DCM en 14 VC). El producto se obtuvo como un aceite amarillento pálido (1,2 g, 43 %, rf = 0,20 (MeOH al 5 % en DCM)). MS: calculado para C₈₁H₁₂₅N₇O₄₁, 1.852,9. Encontrado 1.854,7. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,90-7,80 (m, 10H), 7,65-7,62 (m, 4H), 7,47-7,43 (m, 3H), 7,38-7,32 (m, 8H), 5,24-5,22 (m, 3H), 5,02-4,97 (m, 3H), 4,60-4,57 (m, 3H), 4,07-3,90 (m, 10H), 3,67-3,36 (m, 70H), 3,23-3,07 (m, 25H), 2,18 (s, 10H), 2,00 (s, 13H), 1,89 (s, 11H), 1,80-1,78 (m, 17H). ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170,1 (C), 169,8 (C), 169,7 (C), 169,4 (C), 169,2 (C), 169,1 (C), 142,7 (C), 126,3 (CH), 123,9 (CH), 118,7 (CH), 109,7 (CH), 100,8 (CH), 70,5 (CH), 69,8 (CH), 69,6 (CH), 69,5 (CH), 69,3 (CH₂), 69,0 (CH₂), 68,2 (CH₂), 67,2 (CH₂), 66,7 (CH₂), 61,4 (CH₂), 22,6 (CH₂), 22,4 (3xCH₃), 20,7 (9xCH₃).

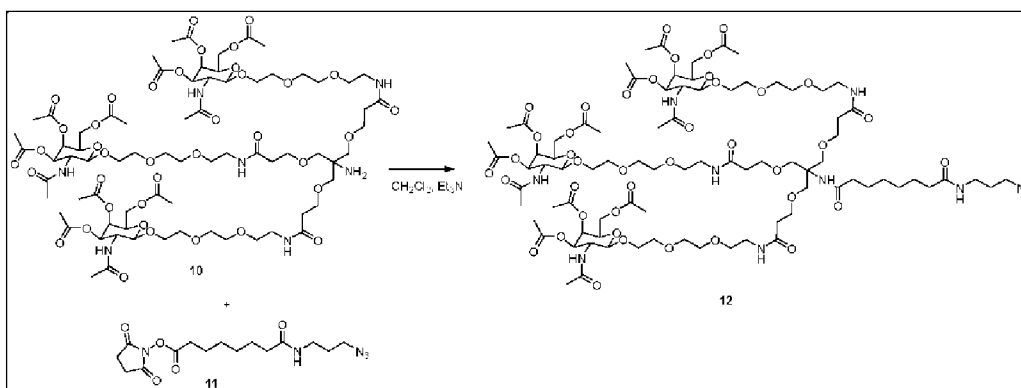


Preparación del compuesto 10: El compuesto triantenario GalNAc 9 (0,27 g, 0,14 mmoles, 1,0 equiv.) se disolvió en MeOH (15 ml), se añadieron 3 gotas de ácido acético (AcOH) y Pd/C (30 mg). La mezcla de reacción se desgasificó usando ciclos de vacío/argón (3x) y se hidrogenó a presión de globo durante la noche. La

compleción de la reacción fue seguida por espectrometría de masas y la mezcla resultante se filtró a través de un lecho delgado de celite. El disolvente se evaporó y el residuo obtenido se secó a alto vacío y se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional. El producto se obtuvo como un aceite amarillento pálido (0,24 g, rendimiento cuantitativo). MS: calculado para $C_{73}H_{119}N_7O_{39}$, 1.718,8. Encontrado 1.719,3.



Preparación del compuesto 11: Se disolvió bis(éster de N-hidroxisuccinimida) de ácido subérico disponible comercialmente (3,67 g, 9,9 mmoles, 1,0 eq.) en DMF (5 ml) y se añadió trietilamina (1,2 ml). A esta solución se le añadió gota a gota una solución de 3-azido-1-propilamina (1,0 g, 9,9 mmoles, 1,0 equiv.) en DMF (5 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (50 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: MeOH al 0-5 % en DCM en 16 VC). El producto se obtuvo como un sólido blanco (1,54 g, 43 %, $rf = 0,71$ (MeOH al 5 % en DCM)). MS: calculado para $C_{15}H_{23}N_5O_5$, 353,4. Encontrado 354,3.



Preparación de TriGalNAc (12): Se disolvieron el compuesto GalNAc triantenario 10 (0,35 g, 0,24 mmoles, 1,0 eq.) y el compuesto 11 (0,11 g, 0,31 mmoles, 1,5 eq.) en DCM (5 ml) bajo argón y se añadió trietilamina (0,1 ml, 0,61 mmoles, 3,0 eq.). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó bajo presión reducida, el residuo se disolvió en EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na_2SO_4 . El disolvente se evaporó y el material en bruto resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (gradiente de elución: MeOH al 0-10 % en DCM en 20 VC) para proporcionar el compuesto del título como un sólido esponjoso blanco (0,27 g, 67 %, $rf = 0,5$ (MeOH al 10 % en DCM)). MS: calculado para $C_{84}H_{137}N_{11}O_{41}$, 1.957,1. Encontrado 1.959,6.

Conjugación de la Ligadura 1 a una cadena de ARNsi: Conjugación de monofluoro ciclooctino (MFO) en el extremo 5' o 3'

Conjugación de MFCO en el extremo 5'



Conjugación de MFCO en el extremo 3'



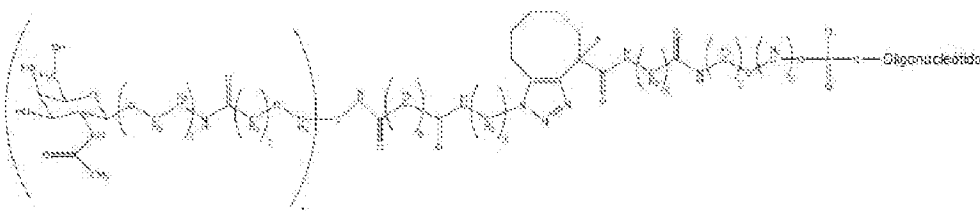
Condiciones generales para la conjugación de MFO: Se disolvió una sola cadena modificada con amina a 700 DO/ml en tampón de carbonato/bicarbonato 50 mM pH 9,6/dimetilsulfóxido (DMSO) 4:6 (v/v) y a esta solución se añadió un equivalente molar de una solución 35 mM de éster de MFCO-C6-NHS (Berry&Associates, Cat. # LK 4300) en DMF. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y después de 1 h se añadió otro

equivalente molar de la solución de MFO. La reacción se dejó proceder durante una hora adicional y se monitorizó por LC/MS. Se necesitaron al menos dos equivalentes molares en exceso del reactivo de éster de NHS de MFO con respecto al oligonucleótido modificado con amino para lograr el consumo cuantitativo del material de partida. La mezcla de reacción se diluyó 15 veces con agua, se filtró a través de un filtro de 1,2 µm de Sartorius y después se purificó por fase inversa (RP HPLC) en un instrumento Äkta Pure (GE Healthcare).

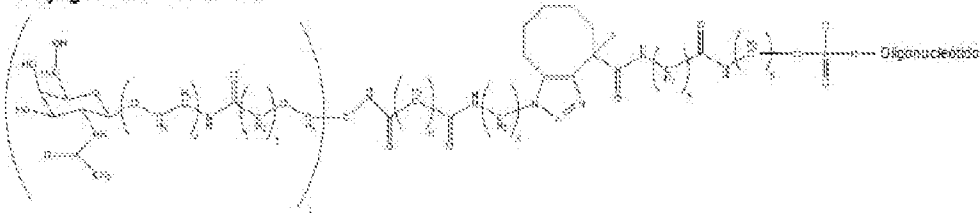
La purificación se realizó usando una columna XBridge C18 Prep 19 x 50 mm de Waters. El tampón A fue TEAAc 100 mM pH 7 y el tampón B contenía acetonitrilo al 95 % en tampón A. Se emplearon un caudal de 10 ml/min y una temperatura de 60 °C. Se registraron trazas de UV a 280 nm. Se empleó un gradiente de B al 0-100 % en 60 volúmenes de columna.

Las fracciones que contenían oligonucleótido conjugado de longitud completa se combinaron, se precipitaron en el congelador con NaOAc 3 M, pH 5,2 y etanol al 85 % y el sedimento recogido se disolvió en agua. Las muestras se desalaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño y se concentraron usando un concentrador speed-vac para rendir el oligonucleótido conjugado con un rendimiento aislado del 40-80 %.

Conjugados 5'-GalNAc-T1



Conjugados 3'-GalNAc-T1



Procedimiento general para la conjugación de TriGalNAc: Se disolvió una sola cadena modificada con MFO a 2.000 DO/ml en agua y a esta solución se añadió una solución equivalente del compuesto 12 (10 mM) en DMF. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y después de 3 h se añadieron 0,7 equivalentes molares de la solución del compuesto 12. La reacción se dejó proceder durante la noche y la compleción se monitorizó por LCMS. El conjugado se diluyó 15 veces en agua, se filtró a través de un filtro de 1,2 µm de Sartorius y después se purificó por RP HPLC en un instrumento Äkta Pure (GE Healthcare).

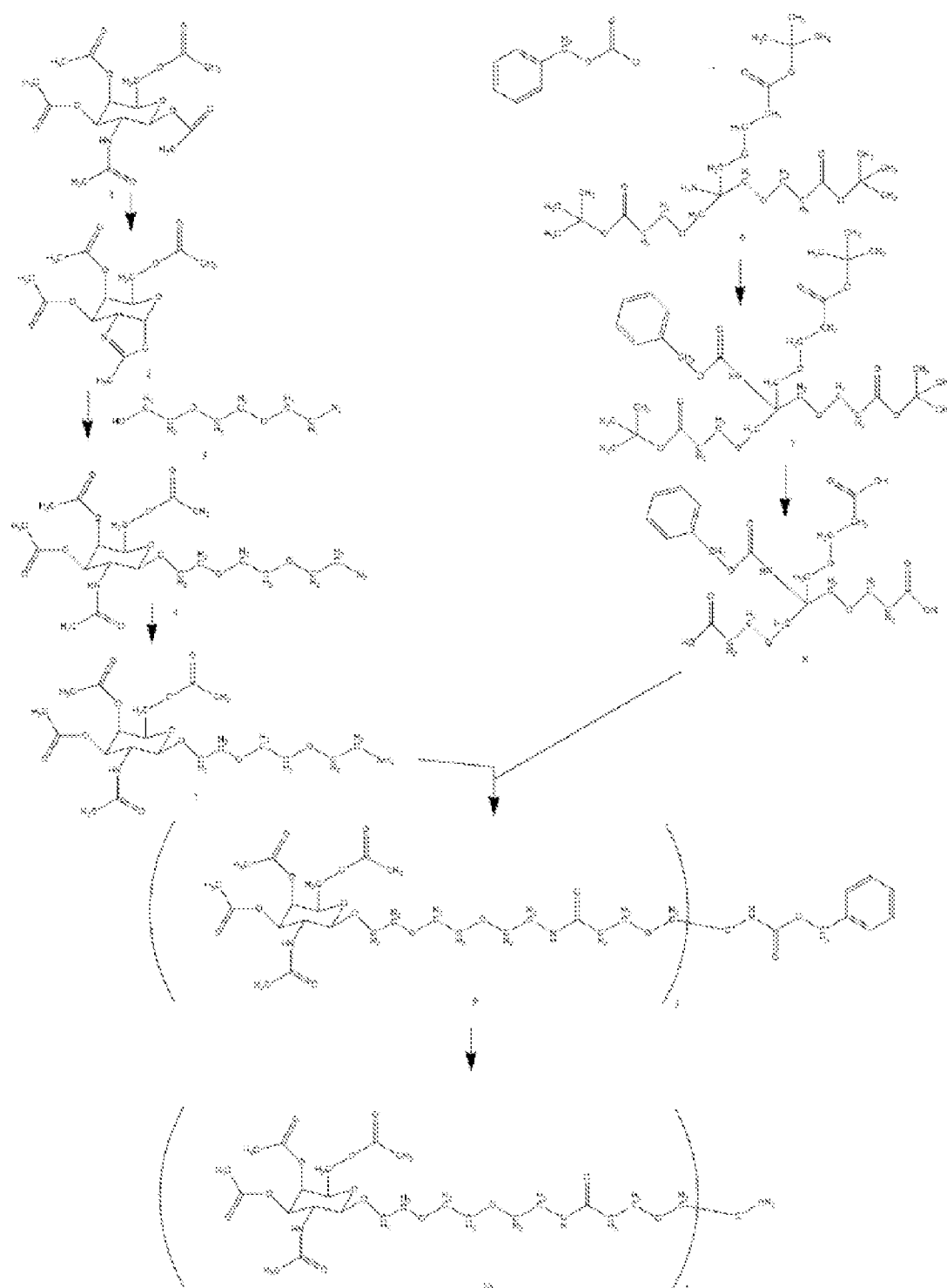
La purificación por RP HPLC se realizó usando una columna XBridge C18 Prep 19 x 50 mm de Waters. El tampón A fue acetato de trietilamonio 100 mM pH 7 y el tampón B contenía acetonitrilo al 95 % en tampón A. Se emplearon un caudal de 10 ml/min y una temperatura de 60 °C. Se registraron trazas de UV a 280 nm. Se empleó un gradiente de B al 0-100 % en 60 volúmenes de columna.

Las fracciones que contenían oligonucleótido conjugado de longitud completa se combinaron, se precipitaron en el congelador con NaOAc 3 M, pH 5,2 y etanol al 85 % y el sedimento recogido se disolvió en agua para dar una solución de oligonucleótido de aproximadamente 1.000 DO/ml. Los O-acetatos se eliminaron añadiendo amoníaco acuoso al 20 %. La eliminación cuantitativa de estos grupos protectores se verificó por LC-MS.

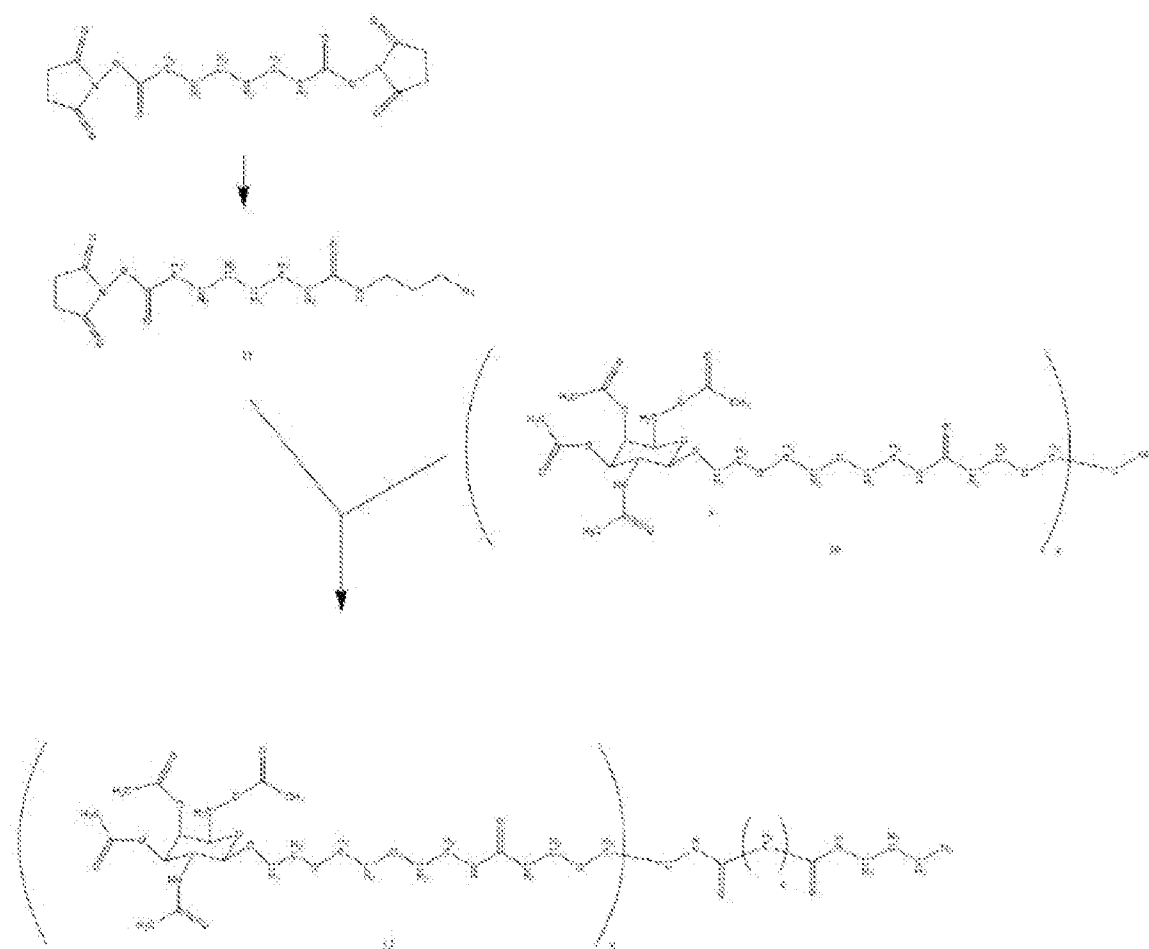
Los conjugados se desalaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño usando resina Sephadex G25 Fine (GE Healthcare) en un instrumento Äkta Pure (GE Healthcare) para rendir los oligonucleótidos conjugados con un rendimiento aislado del 50-70 %.

Los siguientes esquemas exponen adicionalmente las rutas de síntesis:

Esquema 1:

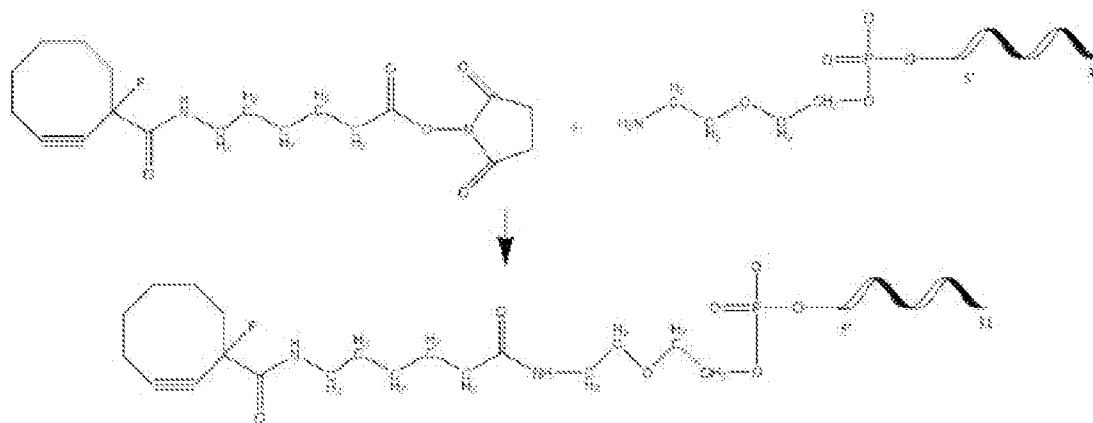


Esquema 2:

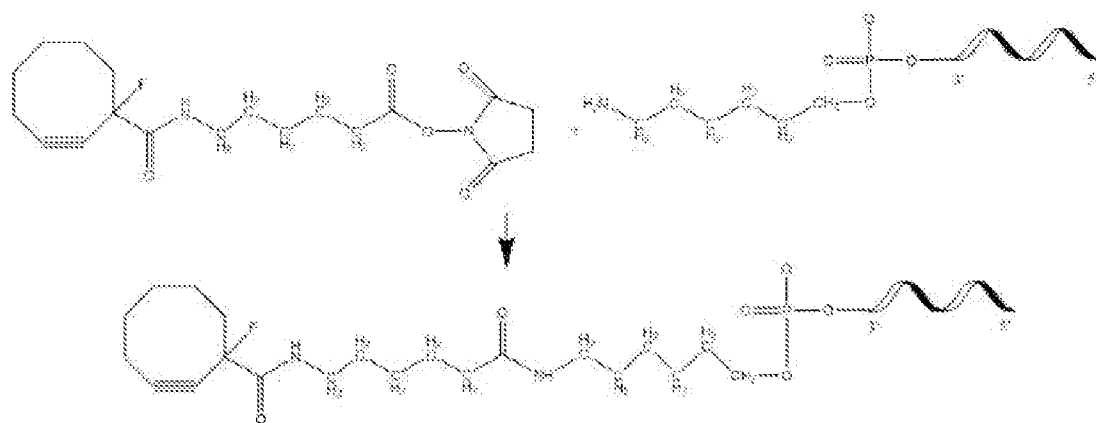


Esquema 3:

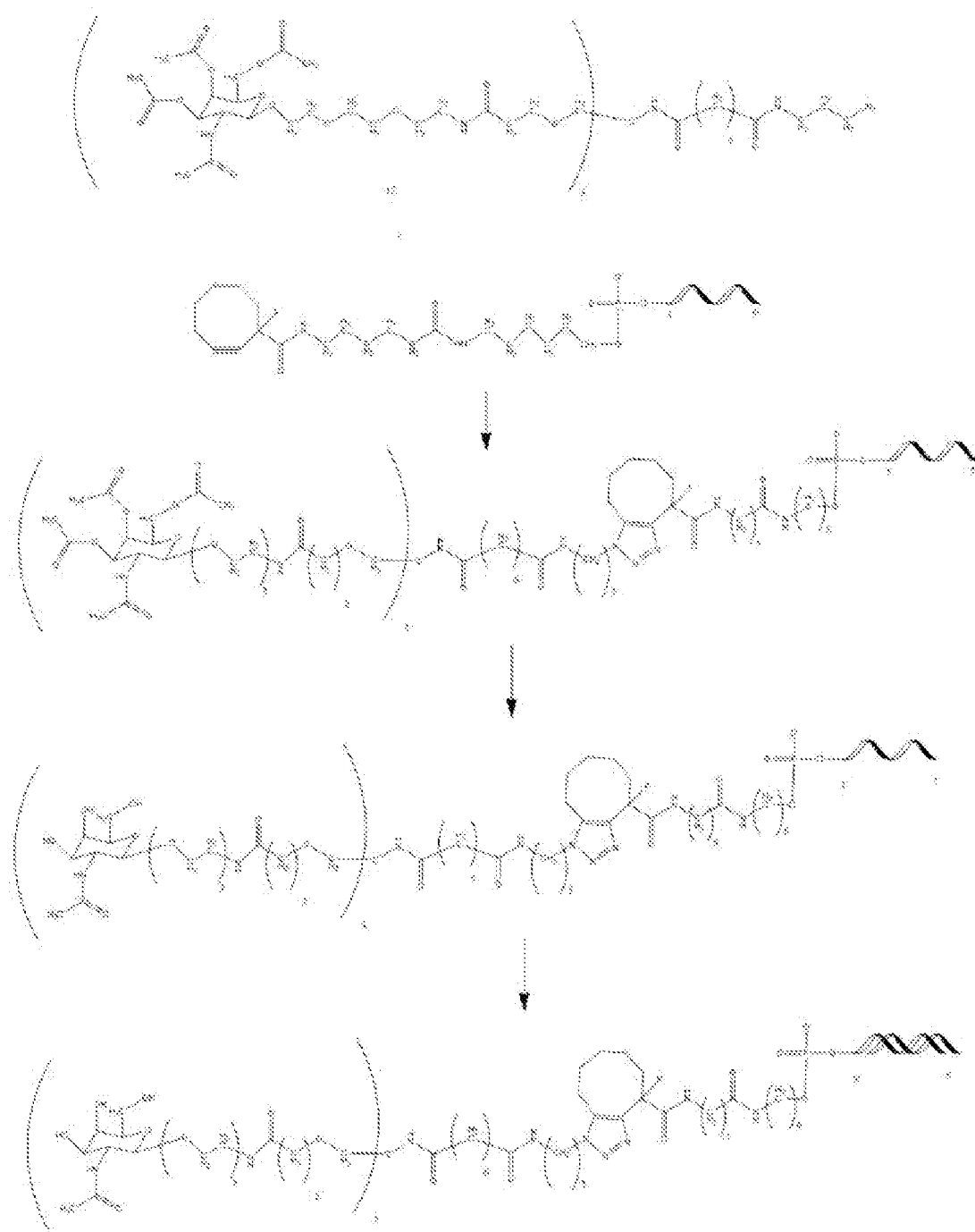
Conjugación de MFCD en el extremo 5'

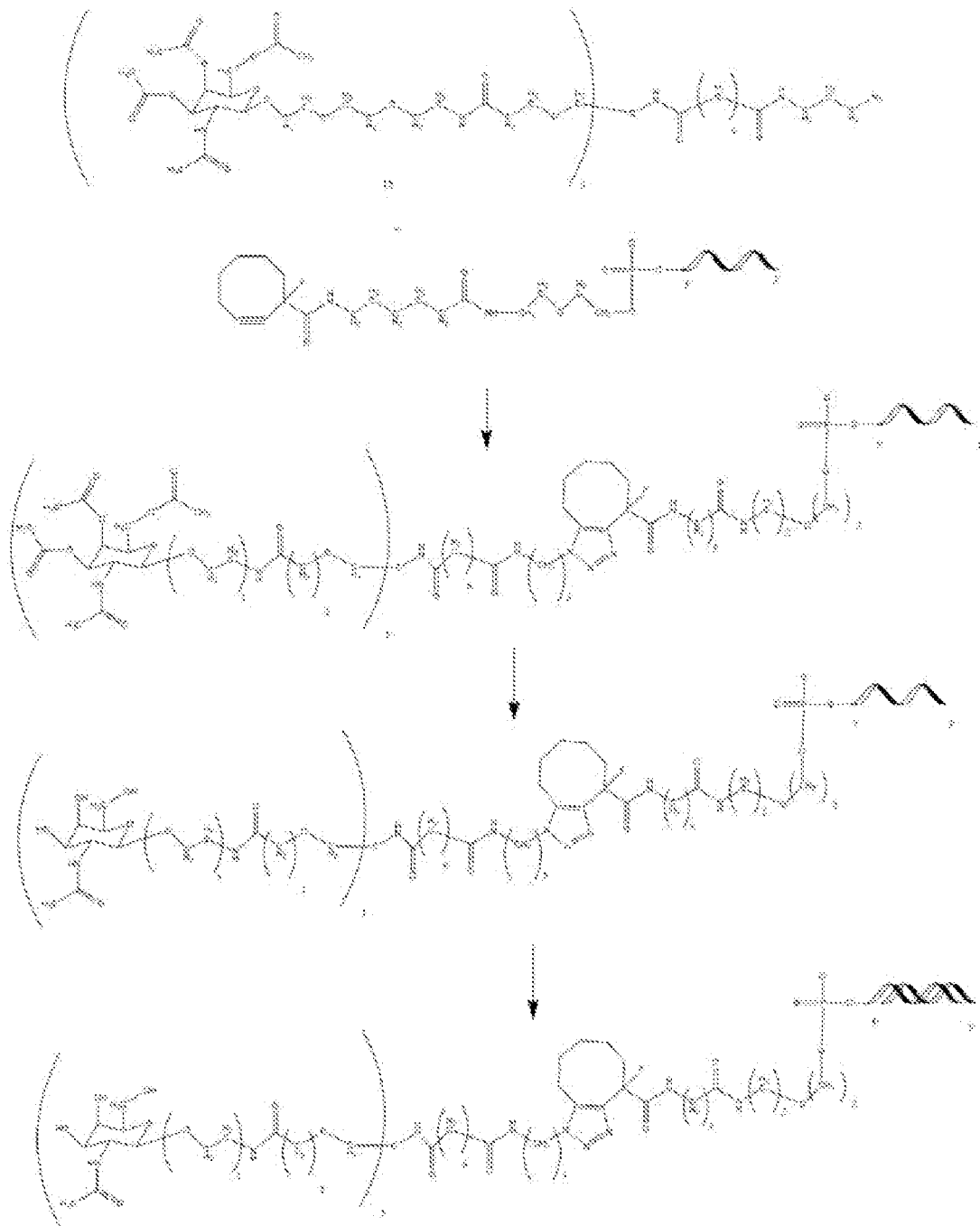


Conjugación de MFCD en el extremo 3'



Esquema 4:



Esquema 5:**Ejemplo 2: Hibridación de dúplex**

- 5 Para generar el dúplex de ARNsi deseado, las dos cadenas complementarias se hibridaron combinando soluciones acuosas equimolares de ambas cadenas. Las mezclas se colocaron en un baño de agua a 70 °C durante 5 minutos y posteriormente se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente en 2 h. Los dúplex se liofilizaron durante 2 días y se almacenaron a -20 °C.
- 10 Los dúplex se analizaron por SEC HPLC analítica en una columna Superdex™ 75 Increase 5/150 GL 5 x 153-158 mm (Cytiva) en un sistema de HPLC Dionex Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific). La fase móvil consistió en 1x PBS que contenía acetonitrilo al 10 %. Se realizó un gradiente isocrático en 10 min a un caudal

de 1,5 ml/min a temperatura ambiente. Se registraron trazas de UV a 260 y 280 nm. Se adquirió agua (grado LC-MS) en Sigma-Aldrich y se adquirió solución salina tamponada con fosfato (PBS; 10x, pH 7,4) en GIBCO (Thermo Fisher Scientific).

5 Ejemplo 3: Síntesis de la ligadura 2

Condiciones experimentales generales:

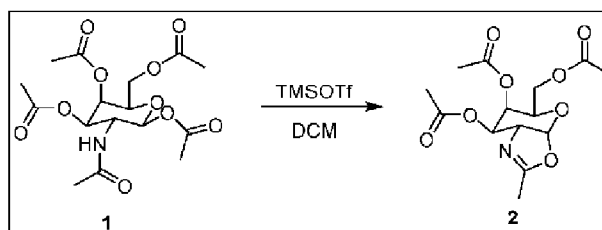
Se realizó cromatografía en capa fina (TLC) en placas de aluminio recubiertas de sílice con indicador de fluorescencia 254 nm de Macherey-Nagel. Los compuestos se visualizaron bajo luz UV (254 nm), o después de pulverizar con H₂SO₄ al 5 % en metanol (MeOH) o reactivo de ninhidrina según Stahl (de Sigma-Aldrich), seguido de calentamiento. La cromatografía ultrarrápida se realizó con un instrumento de cromatografía ultrarrápida Biotage Isolera One equipado con un detector de longitud de onda UV variable doble (200-400 nm) usando columnas de 10, 25, 50 o 100 g de sílice Biotage Sfär (Uppsala, Suecia).

Todas las reacciones sensibles a la humedad se llevaron a cabo en condiciones anhidras usando cristalería seca, disolventes anhidros y atmósfera de argón. Todos los reactivos disponibles comercialmente se adquirieron en Sigma-Aldrich y los disolventes en Carl Roth GmbH + Co. KG. El pentaacetato de D-galactosamina se adquirió en AK scientific.

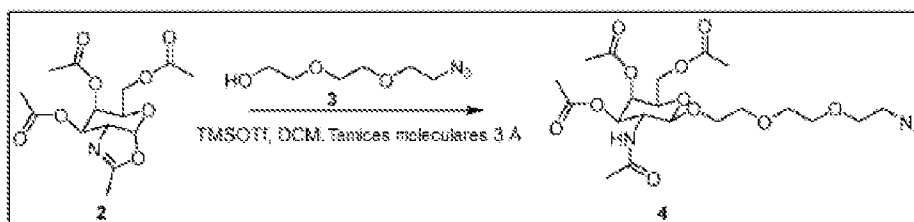
La HPLC/ESI-MS se realizó en un sistema de UHPLC Dionex UltiMate 3000 RS y un espectrómetro de masas Thermo Scientific MSQ Plus usando una columna Acquity UPLC Protein BEH C4 de Waters (300 Å, 1,7 µm, 2,1 x 100 mm) a 60 °C. El sistema de disolvente consistía en disolvente A con H₂O que contenía ácido fórmico al 0,1 % y disolvente B con acetonitrilo (ACN) que contenía ácido fórmico al 0,1 %. Se empleó un gradiente de 5-100 % de B durante 15 min con un caudal de 0,4 ml/min. Detector y condiciones: Detección de aerosol ultracargado en corona (de esa). Temp. del nebulizador: 25 °C. Presión de N₂: 35,1 psi. Filtro: Corona.

Los espectros de RMN de ¹H y ¹³C se registraron a temperatura ambiente en un espectrómetro Varian a 500 MHz (¹H RMN) y 125 MHz (¹³C RMN). Los desplazamientos químicos se dan en ppm con referencia al pico residual del disolvente (CDCl₃ - ¹H RMN: δ a 7,26 ppm y ¹³C RMN δ a 77,2 ppm; DMSO-*d*₆ - ¹H RMN: δ a 2,50 ppm y ¹³C RMN δ a 39,5 ppm). Las constantes de acoplamiento se dan en hercios. Los patrones de división de señal se describen como singlete (s), doblete (d), triplete (t) o multiplete (m).

Ruta de síntesis para el bloque de construcción del conjugado TriGalNAc_Ligadura2

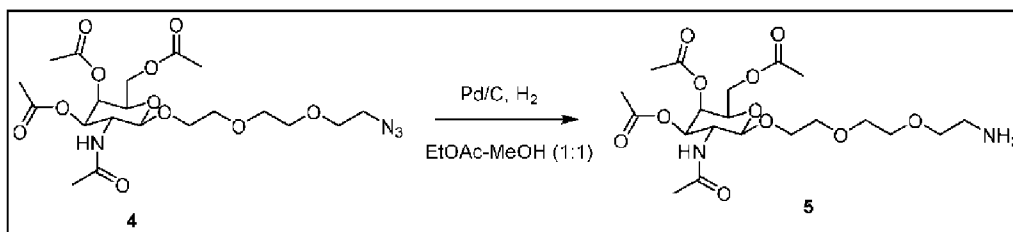


Preparación del compuesto 2: Se disolvió pentaacetato de D-galactosamina (3,00 g, 7,71 mmoles, 1,0 eq.) en diclorometano anhidro (DCM) (30 ml) bajo argón y se añadió trifluorometanosulfonato de trimetilsililo (TMSOTf, 4,28 g, 19,27 mmoles, 2,5 eq.). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. saturado frío (100 mL) y agua (100 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para rendir el compuesto del título como un aceite amarillo, que se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: MeOH al 0-10 % en DCM en 10 VC). El producto se obtuvo como un aceite incoloro (2,5 g, 98 %, rf = 0,45 (MeOH al 2 % en DCM)).

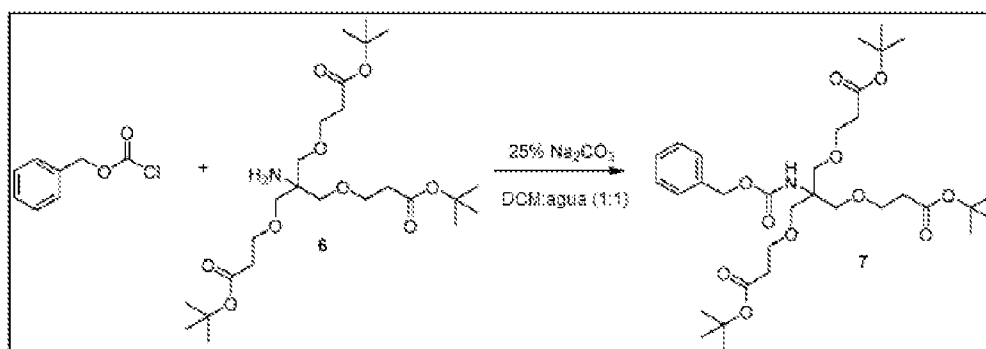


Preparación del compuesto 4: El compuesto 2 (2,30 g, 6,98 mmoles, 1,0 eq.) y azido-PEG3-OH (1,83 g, 10,5 mmoles, 1,5 eq.) se disolvieron en DCM anhidro (40 ml) bajo argón y se añadieron tamices moleculares 3 Å (5 g) a la solución. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después, se añadió TMSOTf (0,77 g, 3,49 mmoles, 0,5 equiv.) a la mezcla y la reacción se agitó durante una noche. Los tamices moleculares

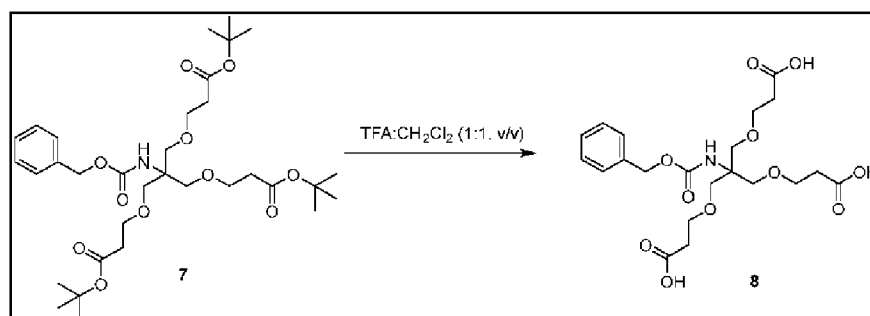
se filtraron, el filtrado se diluyó con DCM (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. saturado frío (100 mL) y agua (100 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: MeOH al 0-3 % en DCM en 10 VC) para rendir el producto del título como un aceite amarillo claro (3,10 g, 88 %, *r_f* = 0,25 (MeOH al 2 % en DCM)). MS: calculado para C₂₀H₃₂N₄O₁₁, 504,21. Encontrado 505,4. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 6,21-6,14 (m, 1H), 5,30 (dd, *J* = 3,4, 1,1 Hz, 1H), 5,04 (dd, *J* = 11,2, 3,4 Hz, 1H), 4,76 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 4,23-4,08 (m, 3H), 3,91-3,80 (m, 3H), 3,74-3,59 (m, 9H), 3,49-3,41 (m, 2H), 2,14 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,97 (d, *J* = 4,2 Hz, 6H). ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ 170,6 (C), 170,5 (C), 170,4 (C), 170,3 (C), 102,1 (CH), 71,6 (CH), 70,8 (CH), 70,6 (CH), 70,5 (CH), 70,3 (CH₂), 69,7 (CH₂), 68,5 (CH₂), 66,6 (CH₂), 61,5 (CH₂), 23,1 (CH₃), 20,7 (3xCH₃).



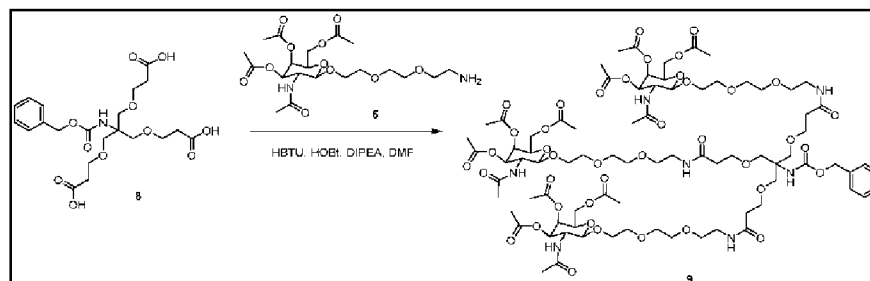
Preparación del compuesto 5: El compuesto 4 (1,00 g, 1,98 mmoles, 1,0 eq.) se disolvió en una mezcla de acetato de etilo (EtOAc) y MeOH (30 ml 1:1 v/v) y se añadió Pd/C (100 mg). La mezcla de reacción se desgasificó usando ciclos de vacío/argón (3x) y se hidrógeno bajo presión de globo durante la noche. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y se lavó con EtOAc (30 ml). El disolvente se eliminó bajo presión reducida para rendir el compuesto del título como un aceite incoloro (0,95 g, rendimiento cuantitativo, *r_f* = 0,25 (MeOH al 10 % en DCM)). El compuesto se usó sin purificación adicional. MS: calculado para C₂₀H₃₄N₂O₁₁, 478,2. Encontrado 479,4.



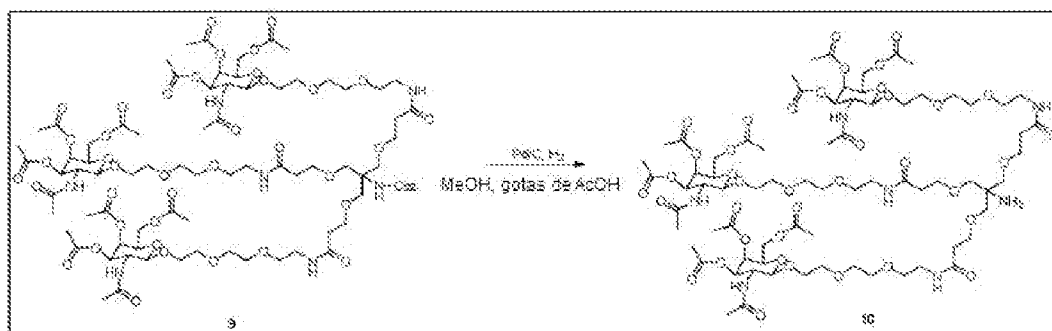
Preparación del compuesto 7: Se disolvió tris[[2-(terc-butoxicarbonil)etoxi]metil]-metilamina 6 (3,37 g, 6,67 mmoles, 1,0 eq.) en una mezcla de DCM/agua (40 ml 1:1 v/v) y se añadió Na₂CO₃ (0,18 g, 1,7 mmoles, 0,25 eq.) mientras se agitaba vigorosamente. Se añadió gota a gota clorocarbonato de bencilo (2,94 ml, 20,7 mmoles, 3,10 equiv.) a la mezcla previa y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (100 ml) y se lavó con agua (100 ml). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el material en bruto resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: EtOAc al 0-10 % en ciclohexano en 12 VC) para rendir el compuesto del título como un aceite amarillento pálido (3,9 g, 91 %, *r_f* = 0,56 (EtOAc al 10 % en ciclohexano)). MS: calculado para C₃₃H₅₃NO₁₁, 639,3. Encontrado 640,9. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,38-7,26 (m, 5H), 4,97 (s, 2H), 3,54 (t, 6H), 3,50 (s, 6H), 2,38 (t, 6H), 1,39 (s, 27H). ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170,3 (3xC), 154,5 (C), 137,1 (C), 128,2 (2xCH), 127,7 (CH), 127,6 (2xCH), 79,7 (3xC), 68,4 (3xCH₂), 66,8 (3xCH₂), 64,9 (C), 58,7 (CH₂), 35,8 (3xCH₂), 27,7 (9xCH₃).



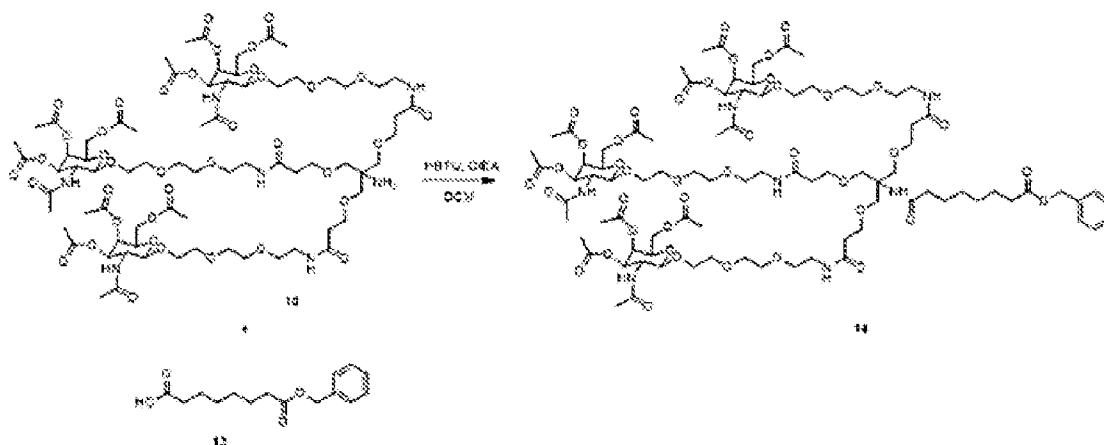
Preparación del compuesto 8: Se disolvió Cbz-NH-tris-Boc-éster 7 (0,20 g, 0,39 mmoles, 1,0 equiv.) en CH_2Cl_2 (1 mL) bajo argón, se añadió ácido trifluoroacético (TFA, 1 mL) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se eliminó bajo presión reducida, el residuo se coevaporó 3 veces con tolueno (5 mL) y se secó a alto vacío para obtener el compuesto como su sal de TFA (0,183 g, 98 %). El compuesto se usó sin purificación adicional. MS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_{11}$, 471,6. Encontrado 472,4.



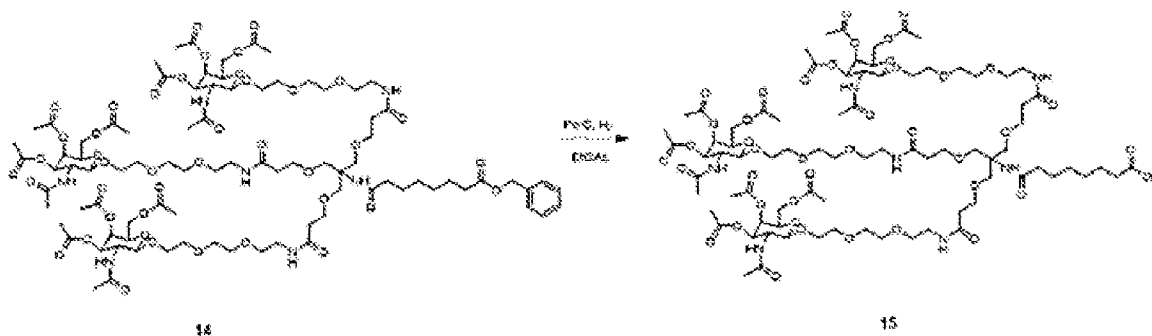
Preparación del compuesto 9: Se disolvieron CbzNH-tris-COOH 8 (0,72 g, 1,49 mmoles, 1,0 equiv.) y GalNAc-PEG3-NH₂ 5 (3,56 g, 7,44 mmoles, 5,0 eq.) en *N,N*-dimetilformamida (DMF) (25 mL). A continuación, se añadieron hexafluorofosfato *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(1H-benzotriazol-1-il)uronio (HBTU) (2,78 g, 7,44 mmoles, 5,0 eq.), hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) (1,05 g, 7,44 mmoles, 5,0 eq.) y *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) (2,07 mL, 11,9 mmoles, 8,0 eq.) a la solución y la reacción se agitó durante 72 h. El disolvente se eliminó bajo presión reducida, el residuo se disolvió en DCM (100 mL) y se lavó con NaHCO_3 ac. saturado (100 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , el disolvente se evaporó y el material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: MeOH al 0-5 % en DCM en 14 VC). El producto se obtuvo como un aceite amarillento pálido (1,2 g, 43 %, $r_f = 0,20$ (MeOH al 5 % en DCM)). MS: calculado para $\text{C}_{81}\text{H}_{125}\text{N}_7\text{O}_{41}$, 1.852,9. Encontrado 1.854,7. ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,90-7,80 (m, 10H), 7,65-7,62 (m, 4H), 7,47-7,43 (m, 3H), 7,38-7,32 (m, 8H), 5,24-5,22 (m, 3H), 5,02-4,97 (m, 4H), 4,60-4,57 (m, 3H), 4,07-3,90 (m, 10H), 3,67-3,36 (m, 70H), 3,23-3,07 (m, 25H), 2,18 (s, 10H), 2,00 (s, 13H), 1,89 (s, 11H), 1,80-1,78 (m, 17H). ^{13}C RMN (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 170,1 (C), 169,8 (C), 169,7 (C), 169,4 (C), 169,2 (C), 169,1 (C), 142,7 (C), 126,3 (CH), 123,9 (CH), 118,7 (CH), 109,7 (CH), 100,8 (CH), 70,5 (CH), 69,8 (CH), 69,6 (CH), 69,5 (CH), 69,3 (CH₂), 69,0 (CH₂), 68,2 (CH₂), 67,2 (CH₂), 66,7 (CH₂), 61,4 (CH₂), 22,6 (CH₂), 22,4 (3xCH₃), 20,7 (9xCH₃).



Preparación del compuesto 10: El compuesto triantenario GalNAc 9 (0,27 g, 0,14 mmoles, 1,0 equiv.) se disolvió en MeOH (15 mL), se añadieron 3 gotas de ácido acético (AcOH) y Pd/C (30 mg). La mezcla de reacción se desgasificó usando ciclos de vacío/argón (3x) y se hidrogenó a presión de globo durante la noche. La compleción de la reacción fue seguida por espectrometría de masas y la mezcla resultante se filtró a través de un lecho delgado de celite. El disolvente se evaporó, y el residuo obtenido se secó a alto vacío y se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional. El producto se obtuvo como un aceite amarillento pálido (0,24 g, rendimiento cuantitativo). MS: calculado para $\text{C}_{73}\text{H}_{119}\text{N}_7\text{O}_{39}$, 1.718,8. Encontrado 1.719,3.

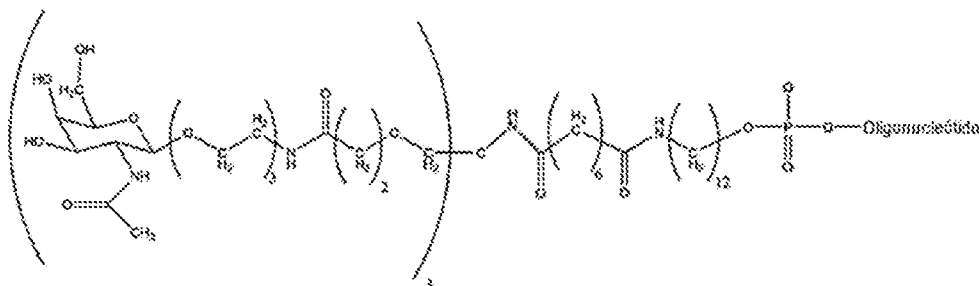
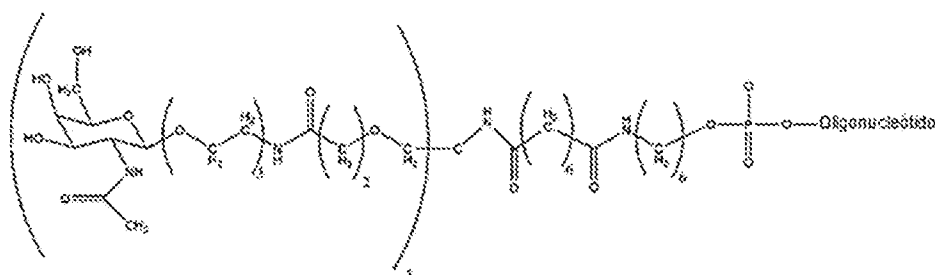


Preparación del compuesto 14: El compuesto triantenario GalNAc 10 (0,45 g, 0,26 mmoles, 1,0 equiv.), HBTU (0,19 g, 0,53 mmoles, 2,0 equiv.) y DIPEA (0,23 ml, 1,3 mmoles, 5,0 equiv.) se disolvieron en DCM (10 ml) bajo argón. A esta mezcla, se añadió gota a gota una solución del compuesto 13 (0,14 g, 0,53 mmoles, 2,0 eq.) en DCM (5 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó, y el residuo se disolvió en EtOAc (50 ml), se lavó con agua (50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó, y el material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución en gradiente: MeOH al 0-5 % en DCM en 20 VC). El producto se obtuvo como un sólido esponjoso blanco (0,25 g, 48 %, *r_f* = 0,4 (MeOH al 10 % en DCM)). MS: calculado para C₈₈H₁₃₇N₇O₄₂ 1.965,1. Encontrado 1.965,6.



Preparación de TriGalNAc (15): El compuesto triantenario GalNAc 14 (0,31 g, 0,15 mmoles, 1,0 eq.) se disolvió en EtOAc (15 ml) y se añadió Pd/C (40 mg). La mezcla de reacción se desgasificó usando ciclos de vacío/argón (3x) y se hidrogenó bajo presión de globo durante la noche. La compleción de la reacción se monitorizó por espectrometría de masas y la mezcla resultante se filtró a través de un lecho delgado de celite. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo resultante se secó a alto vacío durante una noche. El residuo se usó para conjugaciones con oligonucleósidos sin purificación adicional (0,28 g, rendimiento cuantitativo). MS: calculado para C₈₁H₁₃₁N₇O₄₂, 1.874,9. Encontrado 1.875,3.

Conjugación de la ligadura 2 a una cadena de ARNs: conjugación de la ligadura 2 de TriGalNAc (GalNAc-T2) en el extremo 5' o en el extremo 3'

Conjugados 5'-GalNAc-T2**Conjugados 3'-GalNAc-T2**

Preparación de éster NHS de la ligadura 2 de TriGalNAc: A una solución de la ligadura 2 de ácido carboxílico (compuesto 15, 227 mg, 121 μ moles) en DMF (2,1 ml), se añadieron N-hidroxisuccinimida (NHS) (15,3 mg, 133 μ moles) y N,N'-diisopropilcarbodiimida (DIC) (19,7 μ l, 127 μ moles). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 18 h y se usó sin purificación para las reacciones de conjugación posteriores.

Procedimiento general para la conjugación de la ligadura 2 de triGalNAc: Se disolvió una sola cadena modificada con amina a 700 DO/ml en tampón carbonato/bicarbonato 50 mM pH 9,6/DMSO 4:6 (v/v) y a esta solución se le añadió un equivalente molar de solución de éster de NHS de la ligadura 2 (57 mM) en DMF. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y después de 1 h se añadió otro equivalente molar de la solución de éster de NHS. La reacción se dejó proceder durante una hora más y el progreso de la reacción se monitorizó por LCMS. Se necesitó al menos un exceso de dos equivalentes molares del reactivo éster de NHS con respecto al oligonucleósido modificado con amino para conseguir el consumo cuantitativo del material de partida. La mezcla de reacción se diluyó 15 veces con agua, se filtró una vez a través de un filtro de 1,2 μ m de Sartorius y después se purificó en fase inversa (RP HPLC) en un instrumento Äkta Pure (GE Healthcare).

La purificación se realizó usando una columna XBridge C18 Prep 19 x 50 mm de Waters. El tampón A fue TEAA 100 mM pH 7 y el tampón B contenía acetonitrilo al 95 % en tampón A. Se emplearon un caudal de 10 ml/min y una temperatura de 60 °C. Se registraron trazas de UV a 280 nm. Se empleó un gradiente de B al 0-100 % en 60 volúmenes de columna.

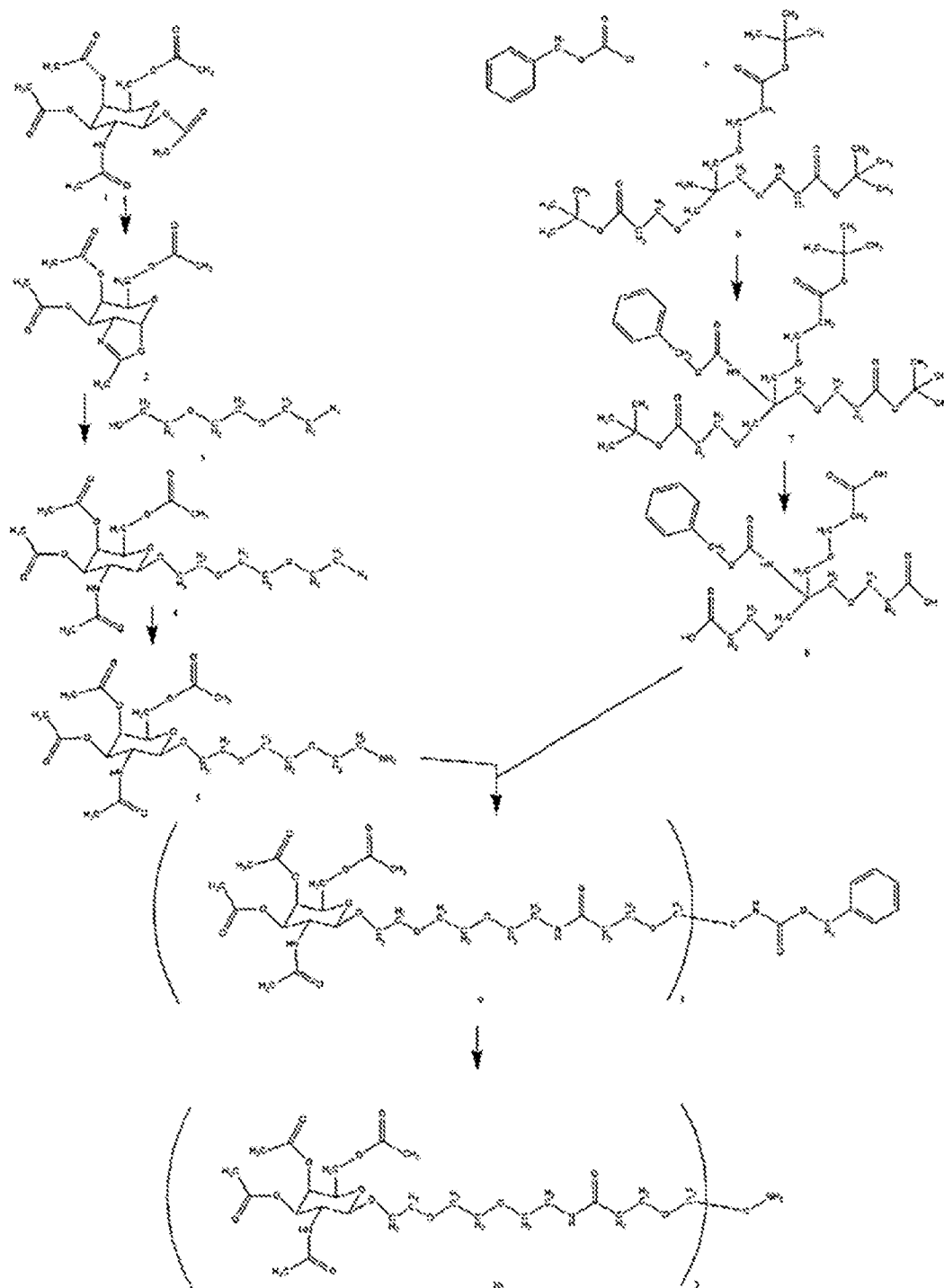
Las fracciones que contenían oligonucleósidos conjugados de longitud completa se combinaron entre sí, se precipitaron en el congelador con NaOAc 3 M, pH 5,2 y etanol al 85 % y después se disolvieron a 1.000 DO/ml en agua. Los O-acetatos se eliminaron con hidróxido de amonio al 20 % en agua hasta la completación (monitorizada por LC-MS).

Los conjugados se desalaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño usando resina Sephadex G25 Fine (GE Healthcare) en un instrumento Äkta Pure (GE Healthcare) para rendir los oligonucleótidos conjugados con un rendimiento aislado del 60-80 %.

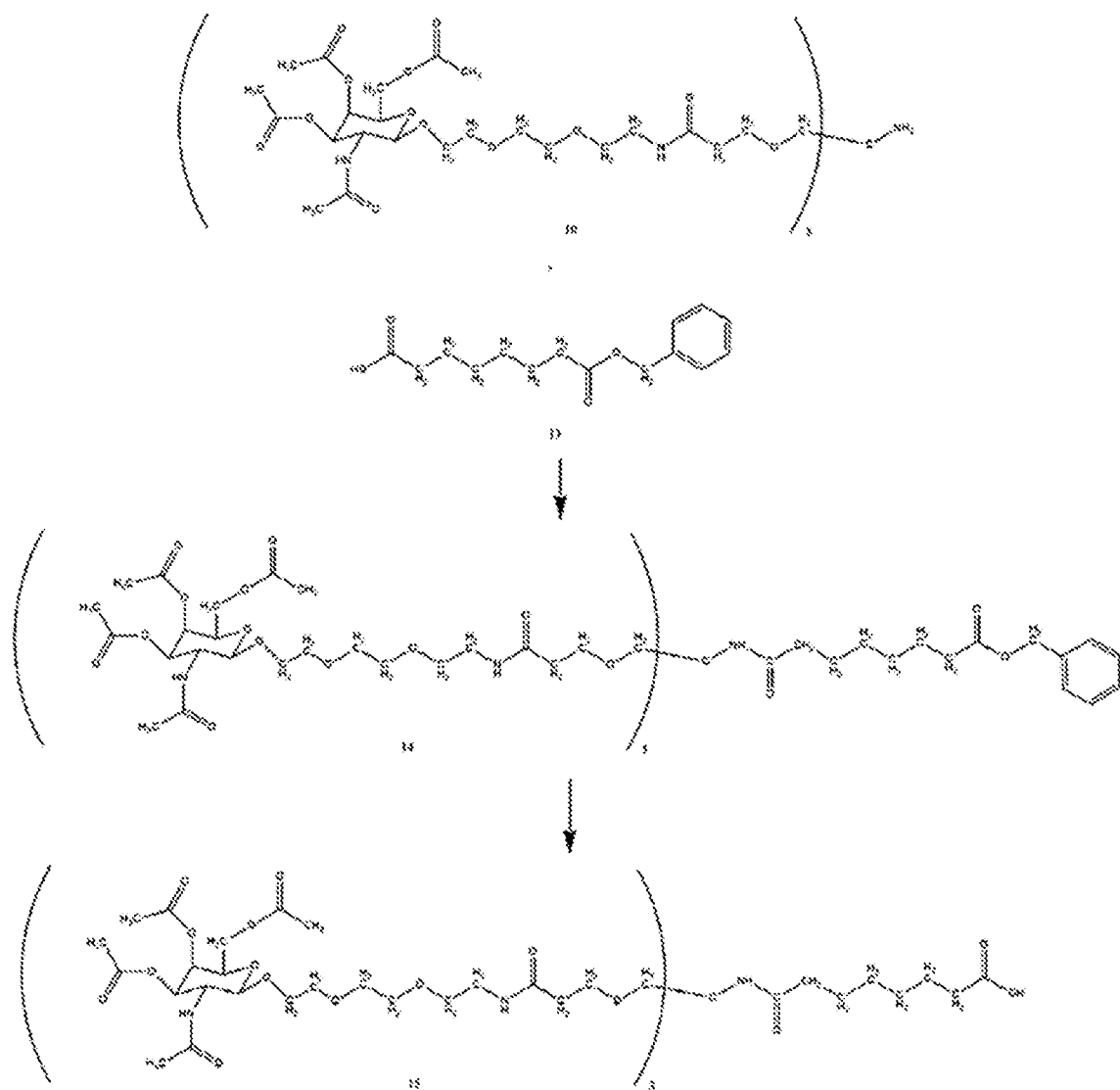
Los conjugados se caracterizaron por análisis de HPLC-MS con una columna XBridge C18 de 2,1 x 50 mm (Waters) en un sistema de HPLC Dionex Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific) equipado con un espectrómetro de masas Compact ESI-Qq-TOF (Bruker Daltonics). El tampón A fue trietilamina 16,3 mM, HFIP 100 mM en MeOH al 1 % en H₂O y el tampón B contenía MeOH al 95 % en tampón A. Se emplearon un caudal de 250 μ l/min y una temperatura de 60 °C. Se registraron trazas de UV a 260 y 280 nm. Se empleó un gradiente de B al 1-100 % en 31 minutos.

Los siguientes esquemas exponen adicionalmente las rutas de síntesis:

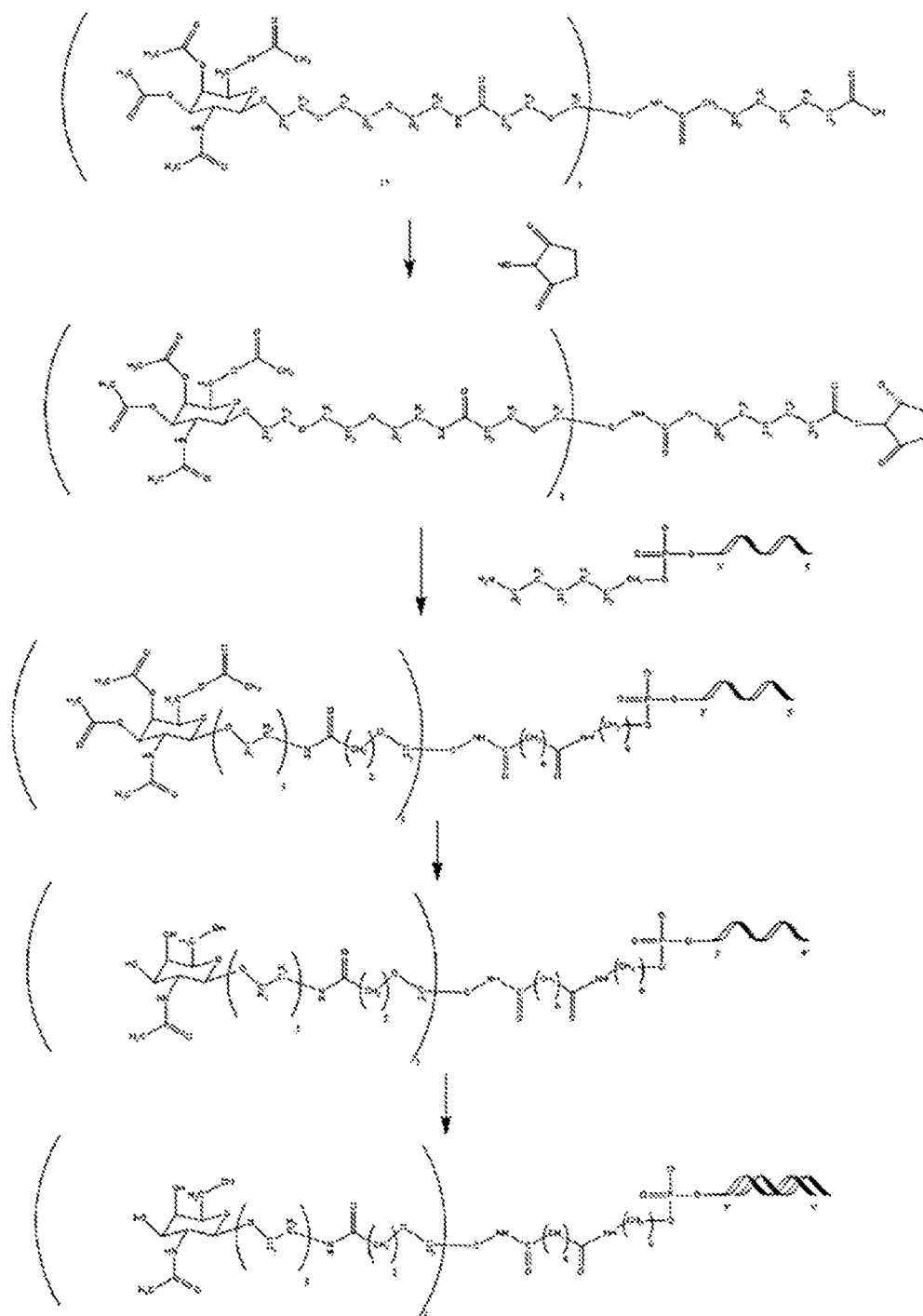
Esquema 6:



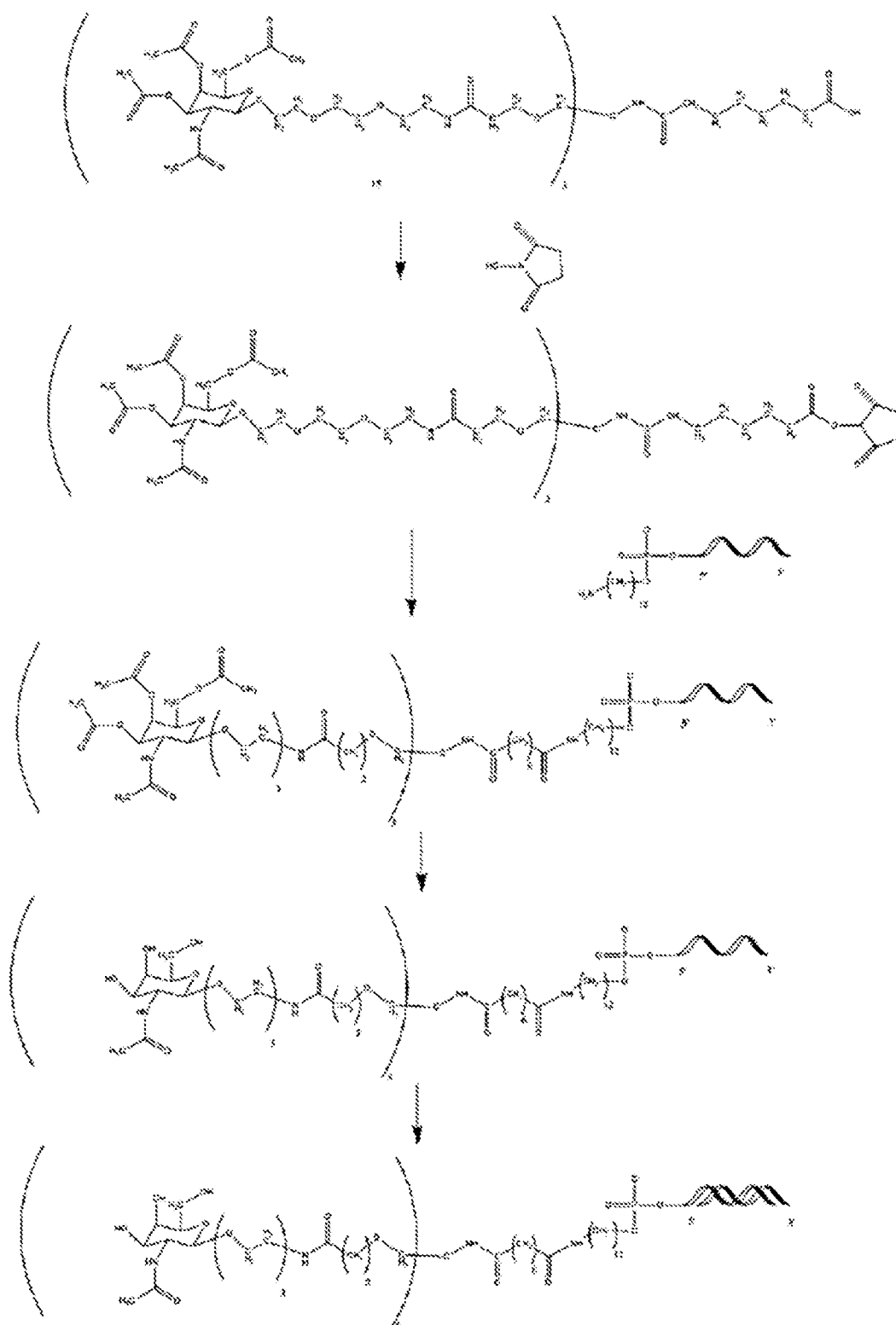
Esquema 7:



Esquema 8:



Esquema 9:

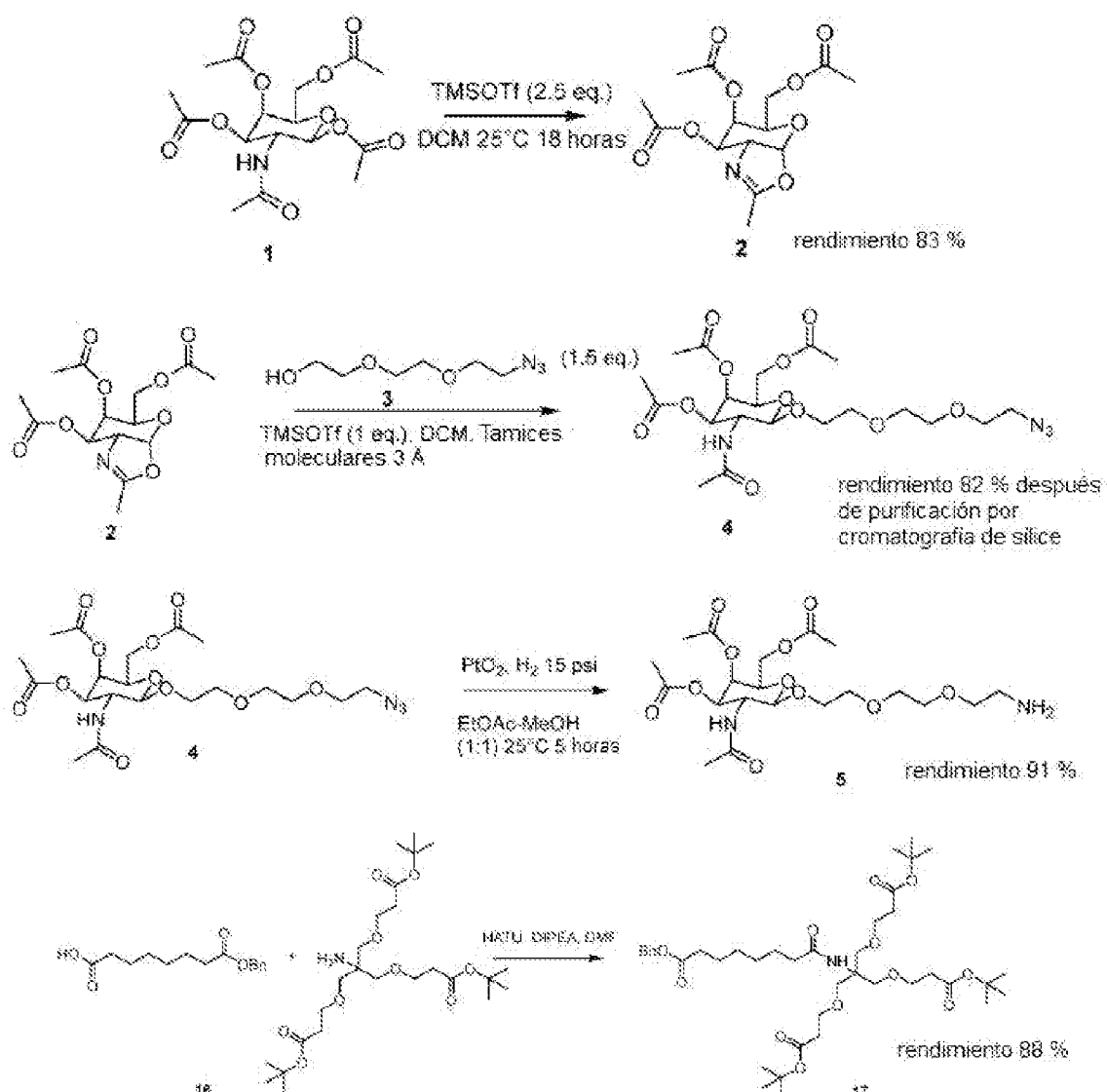


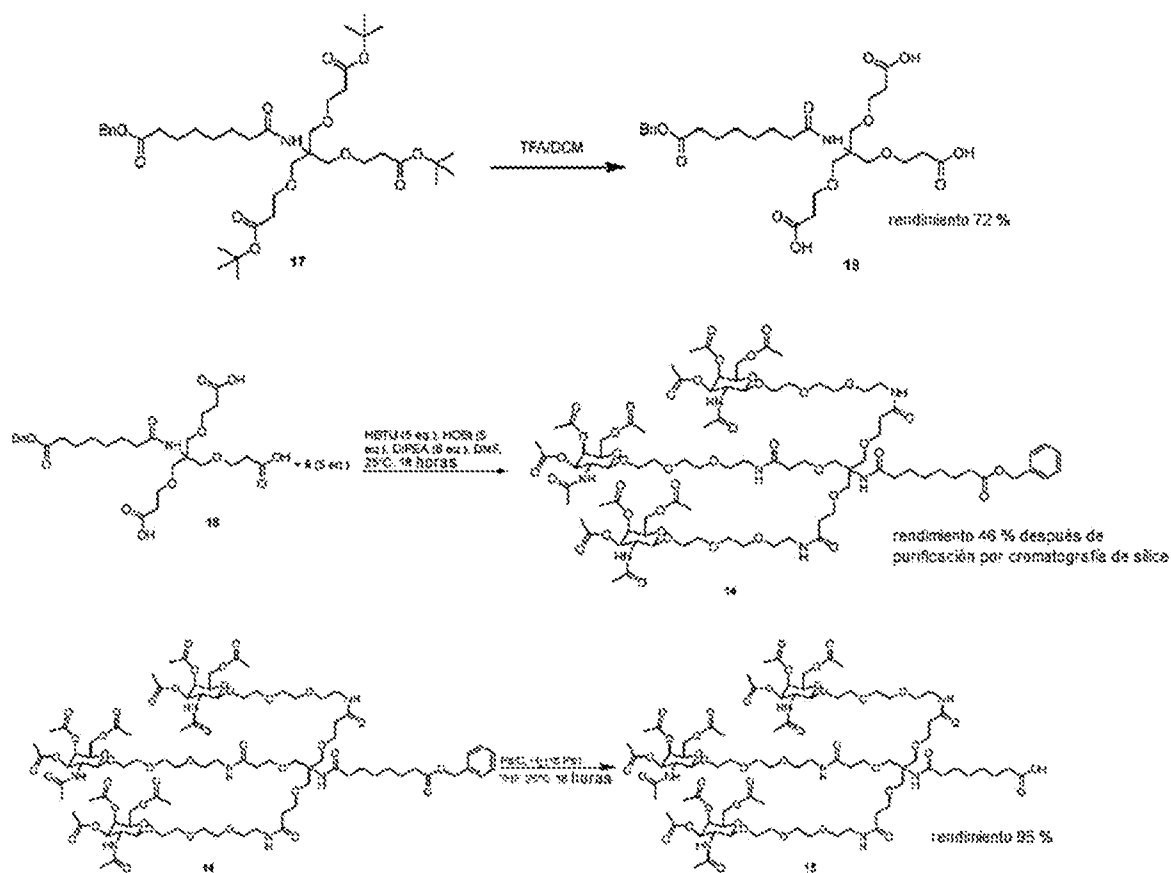
Ejemplo 4: Hibridación de dúplex

Para generar el dúplex de ARNs*i* deseado, las dos cadenas complementarias se hibridaron combinando soluciones acuosas equimolares de ambas cadenas. Las mezclas se colocaron en un baño de agua a 70 °C durante 5 minutos y posteriormente se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente en 2 h. Los dúplex se liofilizaron durante 2 días y se almacenaron a -20 °C.

Los dúplex se analizaron por SEC HPLC analítica en una columna Superdex™ 75 Increase 5/150 GL 5 x 153-158 mm (Cytiva) en un sistema de HPLC Dionex Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific). La fase móvil consistió en 1x PBS que contenía acetonitrilo al 10 %. Se realizó un gradiente isocrático en 10 min a un caudal de 1,5 ml/min a temperatura ambiente. Se registraron trazas de UV a 260 y 280 nm. Se adquirió agua (grado LC-MS) en Sigma-Aldrich y se adquirió solución salina tamponada con fosfato (PBS; 10x, pH 7,4) en GIBCO (Thermo Fisher Scientific).

Ejemplo 5: Ruta de síntesis alternativa para el bloque de construcción del conjugado TriGalNAc_Ligadura2:

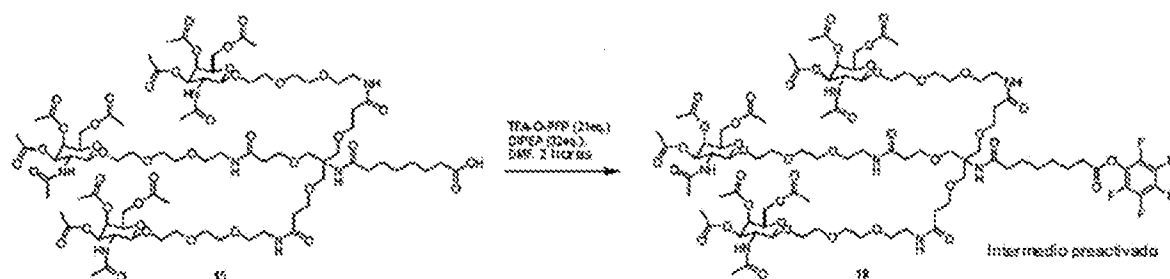




Conjugación de la ligadura 2 a una cadena de ARNs: conjugación de la ligadura 2 TriGalNAc (GalNAc-T2) en el extremo 5' o en el extremo 3'

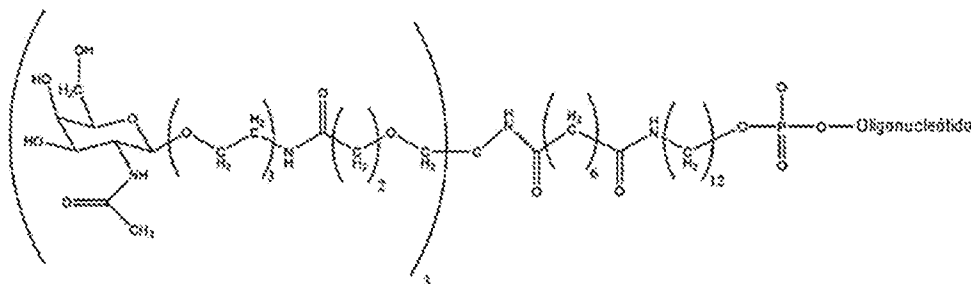
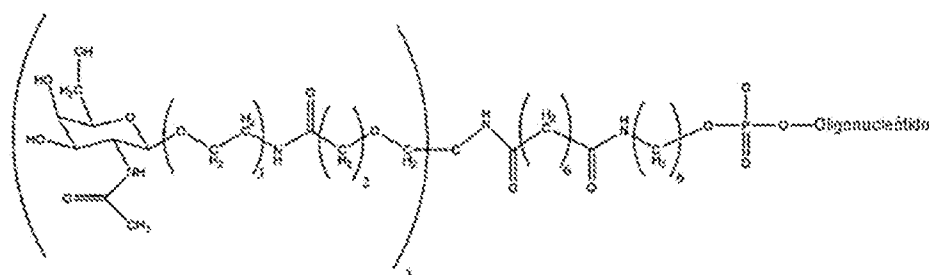
5

Condiciones de la conjugación



10 Preactivación: A una solución del compuesto 15 (16 μ moles, 4 equiv.) en DMF (160 μ l) se le añadió TFA-O-PFP (15 μ l, 21 equiv.) seguido de DIPEA (23 μ l, 32 equiv.) a 25 °C. El tubo se agitó durante 2 h a 25 °C. La reacción se inactivó con H₂O (10 μ l).

15 Acoplamiento: La mezcla resultante se diluyó con DMF (400 μ l), seguido de la adición de una solución de oligo-amina (4,0 μ moles en 10 x PBS, pH 7, 4, 500 μ l; concentración final de oligo en solución orgánica y acuosa: 4 μ moles/ml = 4 mM). El tubo se agitó a 25 °C durante 16 h y la reacción se analizó por LCMS. La mezcla resultante se trató con NH₄OH al 28 % (4,5 ml) y se agitó durante 2 h a 25 °C. La mezcla se analizó por LCMS, se concentró y se purificó por IP-RP HPLC para producir los oligonucleótidos conjugados con la ligadura 2 GalNAc.

Conjugados 5'-GalNAc-T2**Conjugados 3'-GalNAc-T2****Ejemplo 6: Método de síntesis en fase sólida: escala ≤ 1 μ mol**

5

Las síntesis de las cadenas con sentido y antisentido de ARNs se realizaron en un sintetizador MerMade192X con soportes sólidos disponibles comercialmente hechos de vidrio de poro controlado con conector universal (Universal CPG, con una carga de 40 μ moles/g; LGC Biosearch o Glen Research).

10

Las fosforamiditas de ARN se adquirieron en ChemGenes o Hongene.

15

Las 2'-O-metilfosforamiditas usadas fueron las siguientes: 2'-O-metil-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-(4,4'-dimetoxitritil)-N-benzoil-adenosina, 2'-O-metil-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-(4,4'-dimetoxitritil)-N-acetil-citidina, 2'-O-metil-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-(4,4'-dimetoxitritil)-N-isobutiril-guanosina, 2'-O-metil-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-(4,4'-dimetoxitritil)-uridina.

20

Las 2'-F-fosforamiditas usadas fueron las siguientes: 2'-fluoro-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-dimetoxitritil-N-benzoil-desoxiadenosina, 2'-fluoro-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-dimetoxitritil-N-acetil-desoxicitidina, 2'-fluoro-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-dimetoxitritil-N-isobutiril-desoxiguanosina y 2'-fluoro-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-dimetoxitritil-desoxiuridina.

25

Todas las fosforamiditas se disolvieron en acetonitrilo anhidro (Honeywell Research Chemicals) a una concentración de 0,05 M, excepto la fosforamidita de 2'-O-metil-uridina que se disolvió en DMF/MeCN (1:4, v/v). Se usó yodo a 0,02 M en acetonitrilo/piridina/H₂O (DNAchem) como reactivo oxidante. La tiolación para los enlaces fosforotioato se realizó con PADS 0,2 M (TCI) en acetonitrilo/piridina 1:1 v/v. Se usó 5-etil tiotetrazol (ETT) 0,25M mM en acetonitrilo como solución activadora.

30

La fosforamidita abásica invertida, 3-O-dimetoxitritil-2-desoxirribosa-5'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita se adquirieron en Chemgenes (ANP-1422) o Hongene (OP-040).

En cada ciclo, el DMT se eliminó por la solución desbloqueante, TCA al 3 % en DCM (DNAchem).

35

El tiempo de acoplamiento fue de 180 segundos. El tiempo de contacto del oxidante se ajustó a 80 segundos y el tiempo de tiolación fue de 2*100 segundos.

40

Al final de la síntesis, los oligonucleótidos se escindieron del soporte sólido usando una solución de NH₄OH:EtOH 4:1 (v/v) durante 20 horas a 45 °C (TCI). El soporte sólido se retiró entonces por filtración, el filtro se lavó concienzudamente con H₂O y el volumen de la solución combinada se redujo por evaporación bajo

presión reducida.

Los oligonucleótidos se trataron para formar la sal sódica por ultracentrifugación usando la unidad de filtro centrífugo Amicon Ultra-2; tampón PBS (10x, Teknova, pH 7,4, estéril) o por precipitación con EtOH a partir de acetato de sodio 1M.

La identidad de las cadenas individuales se evaluó mediante MS ESI y, después, se hibridaron en agua para formar el ARNsi dúplex final y la pureza del dúplex se evaluó mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

Ejemplo 7: Método de síntesis en fase sólida: escala ≥ 5 μ moles

Las síntesis de las cadenas con sentido y antisentido de ARNsi se realizaron en un sintetizador MerMade12 con soportes sólidos disponibles comercialmente hechos de vidrio de poro controlado con conector universal (Universal CPG, con una carga de 40 μ moles/g; LGC Biosearch o Glen Research) a escala de 5 μ moles. La cadena con sentido destinada a la conjugación en 3' se sintetizó a 12 μ moles en soporte sólido 3'-PT-Amino-Modificador C6 CPG 500 Å con una carga de 86 μ moles/g (LGC).

Las fosforamiditas de ARN se adquirieron en ChemGenes o Hongene.

Las 2'-O-metilfosforamiditas usadas fueron las siguientes: 2'-O-metil-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-(4,4'-dimetoxitritil)-N-benzil-adenosina, 2'-O-metil-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-(4,4'-dimetoxitritil)-N-acetil-citidina, 2'-O-metil-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-(4,4'-dimetoxitritil)-N-isobutil-guanosina, 2'-O-metil-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-(4,4'-dimetoxitritil)-uridina..

Las 2'-F-fosforamiditas utilizadas fueron las siguientes: 2'-fluoro-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-dimetoxitritil-N-benzil-desoxiadenosina, 2'-fluoro-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-dimetoxitritil-N-acetil-desoxicitidina, 2'-fluoro-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-dimetoxitritil-N-isobutil-desoxiguanosina y 2'-fluoro-3'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita de 5'-dimetoxitritil-desoxiuridina.

La fosforamidita abásica invertida, 3-O-dimetoxitritil-2-desoxirribosa-5'-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita se adquirieron en Chemgenes (ANP-1422) o Hongene (OP-040).

Todas las fosforamiditas se disolvieron en acetonitrilo anhidro (Honeywell Research Chemicals) a una concentración de 0,05 M, excepto la fosforamidita de 2'-O-metil-uridina que se disolvió en DMF/MeCN (1:4, v/v). Se usó yodo a 0,02 M en acetonitrilo/piridina/H₂O (DNAchem) como reactivo oxidante. La tiolación para los enlaces fosforotioato se realizó con PADS 0,2 M (TCI) en acetonitrilo/piridina 1:1 v/v. Se usó 5-etil tetrazol (ETT) 0,25 M mM en acetonitrilo como solución activadora.

En cada ciclo, el DMT se eliminó por la solución desbloqueante, TCA al 3 % en DCM (DNAchem).

Para las cadenas sintetizadas en CPG universal, el acoplamiento se realizó con 8 eq. de amidita durante 130 segundos. El tiempo de oxidación fue 47 segundos, el tiempo de tiolación fue 210 segundos.

Para las cadenas sintetizadas en CPG 3'-PT-Amino-Modificador C6 el acoplamiento se realizó con 8 eq. de amidita durante 2*150 segundos. El tiempo de oxidación fue 47 segundos, el tiempo de tiolación fue 250 segundos

Al final de la síntesis, los oligonucleótidos se escindieron del soporte sólido usando una solución de NH₄OH:EtOH 4:1 (v/v) durante 20 horas a 45 °C (TCI). El soporte sólido se retiró entonces por filtración, el filtro se lavó concienzudamente con H₂O y el volumen de la solución combinada se redujo por evaporación bajo presión reducida.

Los oligonucleótidos se trataron para formar la sal sódica por precipitación con EtOH a partir de acetato de sodio 1M.

Los oligonucleótidos monocatenarios se purificaron por IP-RP HPLC en una columna Xbridge BEH C18 5 μ m, 130 Å, 19x150 mm (Waters) con un gradiente creciente de B en A. Fase móvil A: HFIP 240 mM, TEA 7 mM y metanol al 5 % en agua; fase móvil B: HFIP 240 mM, TEA 7 mM en metanol.

La pureza e identidad de las cadenas individuales se evaluaron mediante UPLC/MS ESI- en una columna Xbridge BEH C18 2,5 μ m, 3x50 mm (Waters) con un gradiente creciente de B en A. Fase móvil A: HFIP 100 mM, TEA 5 mM en agua; fase móvil B: fase móvil A al 20 %: acetonitrilo al 80 % (v/v).

Las cadenas con sentido se conjugaron según los protocolos proporcionados en cualquiera de los ejemplos 1,

3 o 5.

Las cadenas con sentido y antisentido se hibridaron después en agua para formar el ARNsi dúplex final y se evaluó la pureza del dúplex por cromatografía de exclusión por tamaño.

5

Ejemplo 8: Secuencias de ácidos nucleicos

Los oligonucleósidos de ARNsi según la presente invención se dirigen a ZPI. La secuencia de ADN completa de la diana ZPI es la siguiente (SEQ ID NO: 1):

10

AATGTGGGTTGGAGCCCECCATACAGAATCTCTATGGGGGCACTGCCCTAGTGGAGCTGTGAGAAAGACG
GCCACCGTCTCCAGACCCCTGAATGGTAGATCCACCGACAGCTTGGCCCATTTTATCCGGAAAAAGCCA
CAGACACTCAACCGCCAGCCCGTGAAGGACAGCCAGGAGGGAGGCTGTACCCCTGCAAAAGCCACAGGGGC
AGAGCTGCCCAAGACCAAGGGAAGCTACCTTTTGCATCAACGCGACCTGGACTCAAAGGAGATCATT
TGGAGCTTTAAAAATTTGACTGACCTGGATTTCAGACTTGCATGGGGCCCTGTAACCACTTCGTTIAG
GCCAATTCTCCCATTTGGAACAGCCGTATTTACCCAATACTGTAAACCCCATTTGTATCTAGGCAGTAA
CTAGCTTGCCTTTTGATTTTACAGGCTCATAGGCAGAAAGGCACTTGCCTTATCTCAGGTGAGACTTTGGA
TTGTGGACTTTTGGGTTAATGATGAAATGAGTTAAGACTTTGGGGGACTGTGAGAAAGGCATGATTGG
TTTGGAAATGTGAGGACATGAGATTTGGCAGGGGCCAGAGGCCGGAATGATATGCTTTGCTCTGTATCC
CCACCCAAATCTCATCTTGAATTTGTACTCCCATAAATCCCAACATGTTGTGGAAGGGAGCCAGTGGGA
GATAATTTGAATCATGGGGGTGGTTCCGCCATACCTGTTCTGTGATAGTGAATAAGTCTCACAAAGATCT
GATGCCCTTATTTGGGGGTTTCTGCTTTTGGCTCTTCTCATTTTCTCTTGGCCGCCACCAAGGTAAGCACTG
CTTTTGGCTCCCAACCATGATTCTGAGGCCCTCCCAAGCCACGTGGAGCTGTAAGTGCAATTTAAACCTCT
TCTCTTCCCACTCTCGGGTATGTCTTTATCAGCGGEGTGAAAAATGGACTAATACACTGTGGTTATGTA
TTATAGTCATATGATATTTTCATATTTTGGAAAGCTGGGTGAAGGGTAGATGTGGAGACCATGATTTTT
GCAAAATTTTTTAAAGTTAAAGTTATTTCTAAATTTAGAAAGTTAAAAAGAAAGAAATCACATAAGCCAT
AACACAATAGAAAGATGTCTTTAAAGTTCAAGGCAGGAGGATGTCTGGAATCAGCGAGAAATTTG
CACCTGTGTGTGCATGTGCATATGTGTGTGTGTATGTTGCAAGGACTTGGAAAGCCCTTTTTTCTCTAC
CTCTGTACTACTGTGGGGGGAGGCTAAACCTTGACTTCTTCCCATCTTAGTTCCTTTTTTGGGATAGACTC
CTGTAACAAAAGACAGACAAAGAGAAAAATCAGCTTACAACATGGGCCATGCACTTCACACAGGAGAA
ACCTGCATGAAAAGTAACTCAAAATGGTGCCTTAGAACTCCACTTACCTTTAGTAAAGAGCAATAAAT
TAGCAGGAAAAATCATGGATCGGACAAAGGGAAGTGGTTTATGCTTCCAAGGGCAGGAAATCATGGA
AGGTAAATATATGGGAGGAAACTAAAGGAATAAGGCTTGTGTCATATTCTCTGATGCCATCTCTGG
GTGATAAGAGTCTAGAGTCAATTCAGTAAAGATGAATTTTTATCTGTCTTTAGGAAGAAAGGGGGA
AAGATAGAGAAAACATTTCTCCATTTGCTGTTTCTTAATTACCTTCAGTTCAAAAATAATTTTTATATC
AGAAAGGCATATTTAGAGGTATGTTAGTTTATTTTACACACIGCTAATAAAGACATAACCAAGACTGG
TAATTTATAAAGAAAAAGAGGTTAATGGACTCACCGTTCCACATGCTTGGAGAGGCCCTCACAAATCAA

GGCAGGCTTTACATGGCAGCAGGCCAAGAGGGGAGAATGAGAGCCAAAGCGAAAGGAATTTCCCTTAAA
 AATCCCTTATAAAACCATCAGATCTCGTGAGACTTACTCACTACCACAAGAACAGTATGGGGGAAAC
 CACCTCTATGATTCATGATCTCCCACTGGGTACCCCCAACAAACACCGTGGGAATTATGGGAGCTACA
 ATTCAAGATAAGATTGGGGTGGGGACACAGACAGACCATATCAAGGGGTAAACATAGTCTGGTTTCCTT
 TACTACCCACCTACCCAAACAACCCCTTCATCTGATCCACACAAAGTAAACTCTTTCAGTTCTCTCACT
 GTTTCCTGGAGTCTGCTTTTGGTCTCATAGGACTGCCCTAACCGTTGTTTTTCAGACGTTTAAACCTOTA
 GGTCTCTGGACAAAATTTGCTTTAGAAAGCCCTCGATGTGGCCCTGAAAGAGTGGCTTTCAGAAAGTTGTGC
 CTCTGGCTGGAGGGAGTTCCAGGAAAGGGTTCTGCATCGCCCTATGAGTTTATCTGGATCACCAGAGGC
 CTTCCTCGTCAGAGCTTTCCCAATCGTTTGGCCAAAGGAGTGTGAGAAAGCTAAAGTTTATAACAACCTG
 GAAGTCAGACAGCGCTGGTCTATTCTGCTTTAACTCTAGCAGGAAAGGCCCTTCATGGTGGGGCTGAAT
 ATCTTCCTTTATAAAATCAAAGCCTGGGACAGGGTTACTTACTTCTGAGGTTCAATCTGGCTCTAAAA
 TTATGCAACAAATGCCATTCCTTTAGCACTTCCTTCCTACCCGGGCGAGATACTCAACTCCACAGGCACC
 ACCTCAGTTTCACTCTCAAGAGTCTAACAGCTCAGCCTGGGGCACCCCATTTTACAGATTAGTAAAC
 TGAGGCTAAGAGAGGTTAAGTAACTTGTTCAGGCTCATGCTGCTGGTAAAGAGCTCAGGCTACAGT
 CTATGCAATTGAGTTTTCCTCACTTTCCCATCTAACTGGAGGGCTAAAGGTCAAAGAGTGGGCACTCCCT
 TGTGGGAGCTGTACAGGAATAATGTCTCTCCCTGAAGGAGGGGGACTTCTGAGCCACACCCGGGGTC
 CAGGGCTCACAGCCTTAGGAGCAAAATCGTCCACCCCTTCTGCTGGTTCCTCGGTGCTGCAGAGATATT
 CATAGGACAGAGTCTGAGTTCTGGCCACTTAACAGAGGAAAGAAAGGCTGGCTCGGTGAGGTTAACTT
 ACATCCCAAGCAGCTAGGAACCGGGAGCAGAGGAGCTEAGATTACACACAGGGCAGGAGGCAATGGCC
 TGGCTGAAGCCTTCACAATCTTCCCAATATACTCGGCTGCTTCTTTATAAGGATCCATTTCTGAAAC
 CCGTGTGCTTGGCCAGGCAGGGTGGCTCACACCTGTAATCCAGTACTTTGGGAGGCCAAGGCAGGAG
 GACCACGAGCTCAGGAGTTTGAGACCAAGCCTGGCCAAATATGGTGAACCCCGTCTCTACTAAAAATAG
 AAAAAATTAGCTGGTGGCAGGCCCTGTAAATCCCAAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCGAGAGAACTGT
 TGAACCTGGGAGGTGGAGGTCTCAGTGAGCTGAGACAGACAGTGCCCTGGGTGACAGACAGAGACTCC
 GTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAGAAACCTGTGCCCTAAGACCTGCACACTCGCTGGCTCCGC
 TCAGACATTTAGCAAAAGCAGACACCTTCCCAAGCCTGGAGGAAACAGCCCTGCTTTTGGGAATCCA
 CAAGCCCCGAGCTGAGAGCTCGACCTGGATGGGCAAGGCAAAAGGCTGACTCTGTGGCTGGTGTGAG
 TCCAGCCTGGCCCTCTACACCTCACTTTACCTCTTAAAGAACTGCCATTAAACAGAGCAAGTACTG
 CCAAAAGGAACACTCTGGAACCTTGTGGGACACTTCTGCTTTCACAAACGTTTGGGGGAGTACT
 ACTAGCATTTAAGGATTGAGGGTTAGCAATGCCAGACATACCAGAACACGCAAGGCACTCTCCCATG
 ATGAAGAGGGCCCGGGGTTCCCAAGGACTCACATGTCCACCTCAAGTTACAGTGGGATTATCTGAGCC
 TAGACTGTCACTCTGGGGCTGCTTTATTTATATAAAAAATATAATATTTATCCAAGGTTTACTACAC
 ACTGCATTTCTGTGAAGACAATGACCGTGTAAATCAGGGAAAGATCTATATTTTATTTTGTGAAAC
 TTTACCAAGCATTATTTACCATTTCAAAAGCTCTATCCCTGGTAGTACCATTGGTTTTCTTGTTCACCGG
 CCAGCAGTGAGCAGCACAAAGCGACCTCCCGTGGGCTCCACATTTGACAGCCTCACTGGACCTGCC
 AGGCCCTTAGGGCCACAGCACTGCCATATTCAAGGACACATTTATCTCTTTTATTATGCTCCCATATTT
 CATTACAGCATTATCTTTTTTTTAAATTTGTGGGTAGATTATATTAAGCTATACGTTCACTTCAATGCTA
 GTAGTAAGGGCACATAACAAAAATATTTACTTATATATTAATAAAAAAGAGAGTCTGAGAAAGTCTGAA
 AAGTTTGTCCATAAACGGTCTCCACCAAGCCTCAACTCTGAGTGCCCGAGGATTCACTCTCAAGTCCAG
 CAACATTTGTGAAGCAGGAAATTTACCTTGAAGAGAGCTATGTACTCTAAGTATGATTTACCTGTCTG
 CCTCCCCACTGGATTGACCAATTCCTTGGGGGCTGAGAGAACAGGTCTGAACATTTCTGCTGTGCCCC
 CCAACCCACATCTCTCATAGTGTCCAGTACCAGGCTGGGGACTCAGGAAGCATCCATGGGATCCCCCA
 GTGCTTCTTTCTCAAGGTGTTTACAGCACTAGAAACAGCTEAGGACAAATTCGCCACACCCACCCAGA
 CAGAGCTGAATCTTACTTGGGGCAAGCCTTGAGTTGCAAGGCAGAAAGCTCTCTGTATGGGATTTGGGT
 CATATTCCGGGTTATAGCAGGAGCTGGGAGTATGGGAAGCCTTCCACTTGGTCTFFGGTTTTCAGAA
 AACTCCACCATCACAAAGCAGGATGTTAATCAGTAACCGTCCACAGGGGATCATACTTTGGAATAGCA
 AATATTTGCTGAAGGTTCTGGGCTGCAAAAGCTGAAAGCTTTGCTTCTGCTCTAAATGAAGGACTTTTCC
 AGGACCCAAAGGCCACACACTGGTAAGAGGCACTGGCTTACAGGAGACCTTCAATGAGTCTAATCAGG
 GAGGGACCGGGAAGGATGGTATCATCCCTGGGGGGGCTCCAACGTGAGGGCTGTGTGGCTGAGCAGT
 GCAAAAGACCTCCATCTTACAUTCCACAGGGACTGTACATACAGATTGGGAGCTGGAGTGGGGTAAGA
 GCGGAATFATAGACACAAGGGGCTCCTCTGCAGGAAGGAGGCCAAGGGGAAAGAGGCTTGAAGGCTT
 GATATTTACCCACCACCACTCACTGCCGGAGTAAAGCAGGCTTCCCTTCCCAGGGCTGAGGGGAGGC
 AGGATGTGTGCTGTGTCAGGGCTGAGAAATGGCAGGTGAGCTGGTGATTCTTACTGCCCCAGGTTCT
 GTCTAGGAAGGTTGCTTCTACCATGCTGGATGGTGTCTTACTTCAAGGACACCCCTGAGCTCTTGG
 CCTAGACTTCAAAGGGTTGGGTAGATGAGCAAGACTTTACAAAGACCTTAGGCGATATATGTCCAGG
 AGCACCCAGGAATTAAGTGGCTACCACTGCAGACTGCAGGACAAAGCTCCAAGAACAGGAAGGTAAGA
 CTCAGCATTTGGAGGTGGTGACATCTAGTTGGCGTGGTGGGCTAAATTTCTGAGCATTTGACAGGGAG
 AAGTAACCTTGAATTCAGGAGTATTCTGTGTGGTCTTAATGTAGAAAGTAGCACTAAATGATGCCACG
 TAATCGTTTTAAGTCAAGGCTCCTCTAACAAAAACACCACAGGCTGGGTGGCTCCAACAGCCATTGATTT
 TCAGAGTTTGGAGGCTGAAAGTCCGAGTCAAGGCTGGCAGGCTGGCCGGATTCTGGTAAGGCTGTCTT
 CTGGCTTGCAGATGGCCACCTTCGCACCGTGTCTCCCATGGAGAGGAGGTGCGGAGGAGGACTCTG
 CTCTCTTCTTATGACAGCACTAGTGCTATCACAGGGGCTTGGCCCTCACGACCTCATCTAAACCTAATC
 ACCTCCCAAGCGCCCCAACCTCTATTGCCATCACAAATGGTGGTTCCGGCTTCAACTTATTAATTCAGG

GGACACATTCAGTCCATAACAATAAAAGCGTGAACCTGGGCTGCCTTTACACTGAAAGAGCTATTTAC
 CCAACCTTTACAATACCTTGGGTGACCTGTTGAATGCAGGCTTGCATTTAGAGTCAAAAAGAGCTTCC
 TCAACAGTGTCTTTGGGAAACACAGTGGAAATATTTCACTGCTTCTACAGGGGAGAGGGTAGTGCCG
 TTCAGACTGCAGAGTGAGGCCCTGAAATCCCGGGTGGCATTCAGCCCGAGCAAGGGGGCAACATGCTG
 GGCCCTGGCCCTGGAGGGCGGTTTTGTCCABGGCATAGATAAGGACTCAGCCCTGCATCAGGAAGAG
 GCCTGGCAGCACCCTGTCAATACATTTTGC'CGCAGGTGACCTTGGTCAAGAATAAGGGTCTCTGCT
 GATGGGAACCTACTGTGAGGCCGGCAGCATCAACCTGCGCTCACTGGCTGGGTGGCTACCCCAACC
 AGACCTTCCAGGGCAGTGGGCCAGAGAGAGAGGATGAGGGAGGGCAGGTGTCCAGGGGTTCTGCC
 AGCCAGCCCTCGGGATCAGGCCCTGCAGTGTGGCTGAACACCAGAACTGABTTTGGACACAGCCAGGT
 GGCCCAAGCCAGTCCCAAGCCATGTATTTGGATGGAACACATGGAAATATTCAGGAGCCAGGCTCTGT
 GTCCAAAGGATGTGGAGGGAGCCATAAAAGGCGACAGAGAAGGGGACAGCTAACGGTGAAGAAATGTA
 GCTCCCACTGTCAGGCTAGGACAGTGAAGAACCGGCATGACAGCCAGGTGGCTGAGGGCTCTATGAA
 GCCACAGTGGAGGGAGCCAGAAAGTGGGTTGTATGAAATTCGGGGGCCCTCTGCTACCGGGGAGCTGC
 AGCTATAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGACCTCAAGGAACCTGTGTAGCAGAGGTGCAAGTGCAAAG
 AGAATTTGTGATAAAAAATCCAGGAAAGCTCCAATACTTTCCCTTCTCTTACCGGCATGACAGG
 CACTCCAAATCCCAAGCCAAACAGGGCACTGGCAAGGCCCGCCACCCATCTGGATGGGCAGGCTGAC
 GACCAGATGGTCAAGGGCAGTGAATGAAGCAGATCAAGGAAAAGGTGTGTGAGGACCCCTGATTCACC
 TGCTTGGACCCCACTTCTGTGCTGCTCTGCTGCCAGAGTGGACTCTCTTGCCCTGGCCCTCAGGG
 AGGAGACGGGATGAATGAAAACGGGGTCAAGGACTGAGAGTGGCTGGCGGCTGGCAGGGAATGGG
 AACTGGAGGAGGTTTTGCTCTGTGAAATAATGTCCTCTTTGGGTGAGCAATGTCAACCCACACTTGC
 TCTAGGTCTCCCTGGGGCAGGGCTAACCTACTTGAAGCCACAGGAAAGGAGGCAAGGTCCCTGAAGAA
 CTTTACTATCCACAAAGACATTTTAGGAGGCATTAAGAACCATCTCTATCTCTCTCTCCACAGGAAG
 TCTTGCAGCTGAAGGAGGCACTCTTGGCTCCCGAGCCCATCAGATGAAGGTGGTGGCAAGTCTCC
 TGCTTCCGCTCTCTCTGGCAGGCTGGCTGGTACCCGGCTTGGCCCCCACTCTCAGTCCGAGAGA
 CCCCAGCCCCFCAGAAACCAGACCAGCAGGCTAGTGCAGGCTCCCAAGGAGGAAGAGGAAGATGAGCA
 GGAAGGCCAGCGAGGAGAAAGGCCAGTGAGGAAGAGAAAGCCCTGGCTGATGGCCAGCAGGCAGCAGCT
 TGCCAAAGGAGACTTCAAACCTTCGGATTCAAGCTGCTGCGAAAAGATCTCCATGAGGCACGATGGCAACA
 TGGTCTTCTCTCCATTTGGCATGTCTTGGCCATGACAGGCTTGAATGCTGGGGGCCACAGGGGCCACTG
 AAACCCAGATCAAGAGAGGGCTCCACTTGCAGGCCCTGAAGGCCACCAAGCCCCGGCTCCTGCTTCC
 CTCTTTAAGGGACTCAGAGAGACCCTCTCCCGCAACCTGGAACTGGGCTCAGACAGGGGAGTTTTGC
 CTTCATCCACAAGGATTTTGAATGTCAAAAGAGACTTCTTCAATTTATCCAAAGAGGTATTTTGAATACAGA
 GTGCGTGCCTATGAATTTTCGCAATGCCCTCAGAGGCCAAAAGGCTCATGAATCATTACATTAACAAAG
 AGACTCGGGGGGAAAATTTCCAAACTGTTTGTATGAGATTAATCTGAAACCAAATTAATFCTGTGGAT
 TACATCTTGTTCAAAAGTACTTTGATAATGTTCTGCTCTCCCAAGGCCACAGGGCCCTACGATTTGTCTC
 TCCCTTTCCTTTTCCTTAGGCCAGCATATGATTAACGCTACCTGATTTTCTATGAATGTGTTTTACAGTTT
 CAAAAACAGATTGATACACATATTGAACAGTGGCAGACGCTGTCAATTTGAGGGCTTCCCTGGTATCC
 TATGTGCTTGTAGTCCCTTATTTATTTCAAGAGCACTCTACATAGCTCCCTCTGACACTTAGAAGCATA
 GGTCTTTCCAAAAAACAGGGGGCTGGGGGATTTATCTGGGGGATTTAGGATTGCATCATTGCTCTCTCA
 TTTTACTTTTTGACCAACTCTCTGCCCTTAGATTCTTATATAGAAAATAGGGACACTCCACCTACTAC
 AGTGTAGAGGCTAAATGAGACAAATGAATGTAAAGTGCCAGATGGGCTTGGCAGATAGCAAGACACT
 GAGTATCTATTGTTTACTTGTCTTCCAAACTGGCCAATCAGCAGGTAGAGCAGGAGTTGTCTCTCTTCT
 AAAAGATGAACACAGCTCAGAGACGTTAGCTTGATCAAGGTCACACAGTAAGTGGCAGAGGCCAAAACC
 CAAACAAGGGCTCTCTGACCCCTGATCCCTAGGTTCTGTCCAGCCCTGCCCTCCCTAATGGGGCACTGG
 ACCTGGGTGGATGGCACTTTCCAGAGCTGGCAGCAGAACTTACAAAGCCCCGGCAGGGGAAAGCCAC
 TTTACAACCAGGCCAGGCCACACCCCAAGGGCAGAGGTTTATGTAGAGAGTAATGTACCTGECTGTCTAG
 TAGCCTCTGCATTTGTGGGGCTTCTCTCAGAAACCACACTAAACAGTGGGTGGGTGAGAAATGTCTACTC
 CTGCCACCTTGGACTCTGCATGTGCTTGTGCTGCTGTGAAATGAGAAAGGTGGCAGTCAAGGTGCC
 AGGCAAAAGGCTTTTCTCAAGCTGGAGCCAACTATGAAGGAACGACTGTGAAATCCGTTCAAGTCCAG
 GACAATGAGAGGAGGCCAGGGATTGTTAGGAAACATTTCCCTGCTTTGCTGTGGGATTTCCCAATAGGGC
 CTGCGAGTGGAGCTGCATTTTCTAGCTGGGCTAGAGGACGGGGAAAATTTTGGGGAAAATTTATTTTG
 CCTGCCCTGAGCTGTGGAAAAGCCAAACCCAATTAGGGGAACGGCTTTCTAGTTGGAACGAGAAAGACGA
 GAAATGAGAGAAAGTGAATAGAAAGGCTCCCTCTCTATTAATTTGAGCAAGAAACATGCTTTTCAAAGAG
 BGAATTTCTGCAATGAGTTCTTCTCTTACTTGTTCAGGGGAAATGGTTGACCCCATTTGACCCCTGTCTTC
 ACCGAAAGTEGACACTTTTCACCTGGACAAGTACAAGACCATTAAGGTGCCCATGATGTACGGTGCAGG
 CAAGTTTGGCTCCACCTTTGACAAGAATTTTCCTTGTCTATGCTCTCAAACCTGCCCTACCAAGGAAATGC
 CACCATGCTGGTGGTCCCTCATGGAGAAAATGGGTGACCACCTCGCCCTTGAAGACTACCTGACACAG
 ACTTGGTGGAGACATGGCTCAGAAAACATGAAAACCAAGTACAACCTTGGCCACACCTTATACAAACT
 CTACCTTCTGTACTGGCAAACGGCTCAGCACAATTTCAATGGAATGCACCGTGATTTAATGTCTCTCCCA
 GTGAGCTATAAGTTTTCTGAAGGCCAGGGCAGCATTTGTCTTTTTTCCACTCTATCCCAAGCATCTGTC
 ACAGGGTGGCTGGCTGATTTCATTTCATTGAGTCCATCAGTATTTTACGTTCTGGCACTGTGATAAATATA
 TGATGCCAGGGATCCATCAGCAAAACAAAACAGGCCAAAATTAGTCTGCCCTCATGACGCTTACATTCTA
 TTGAAGGAAGACAAAGAGTAAATTAATAATAGGTAAATGCAAGGGAAGGGGACAAAGAGCATCAT
 CAGGATGCAGATGGAGGTTAGACAAGGCCCTCTCCAAGAGGTAACAGTAAGCAAAACATCTGAAGATG

AAGGATAAAACCATGTGGAATATATTTCGGGGAGAGAGAGTGTATTGTTTACAGGACAGAAAGTGTACAAAGTTCT
 GGGATGGGAGTGTACCTGGTGGGTTTGAAGAACATCAAGGAGACAAAGTGTGGCTTCAGGAGTTGGAG
 ATAAAATCAGAGAGGAAACAGGGGCCCACTCCCCAGAAAAGACTTGGGCTTTCTGAGAGAGGACAGG
 AAGCCACTGGATGGTTCGAGTAGAGGAGCAACCTGATTTTGACTTCTGTTTTTAAAGGATCACATAA
 GCTCTTGTTGTAGAAAAGACACTAGGGGTAAGGATGGAAGCAAGGAGAGTGGTGAAGAAAGTTAC
 TAGCAATCCAGGTAGAGATGCTGCTACTCTGAGCTCGCGTGCTGGTAGTGGAAAGTGGTGAAGAGTGGC
 TGGATTCTGGATCTATTAGGAAGTGCAGGATCTGCTAATCGATTGGATGTGGGTGAGAGAGGTTCTCAA
 AGGTGATCACAAAAGTTTTTGGCCTTAGCAACTGGAAAGAGCGGATTTGCCATTTACTGAAAAGGGGGAGG
 AACAGGTTCTGGGTAAGTGCAGAAATTCAGTCTTAAACACTTGGATCAGAAATACTATTAGACATCC
 AAGTTGAGATGTCAAGACGACAGGTTGGATCTGGAGTCTAGGGTGAGGTCCAGGCCGGAGATATAAAT
 TCGGTCAATCAACACAGAACTAGAAATCTAGACACATGACAGGGTTTGGGGTCTGTAAATATAGAGGAGA
 GGAAAAGAAAGCACAGAGTGGGCACTGAAATGTCTGCCCAATAAAATTAATTCACCTATTGGAGTACA
 AGHAAAATGGCTGCAATACGAATTCATGGCTATGGCTCTGAAATCTGTGACTCAGATTGTTGGCAGA
 CAAGTGCAGCTAAAGGTGCTCCAGGGTTAGTTTTATCTTCATTTATTTCTTTTCACTTTTCTTCTTCAICTT
 TAGCACCTAACAATGAACCCCAAAATCATAGAGCCCTCAAGTTAATGTTTGTCTGAATGAATFAACTTTTT
 AAATTAATCTTCAAGACACGTCATGTCTCAATTAATTTTTAAATAAAATAAAAAAATTTTATTTTGAGCC
 ACAGAACTCATCTTTTCAAGCAACATATTTTCAAAGGAGGACTCCAGTATACAAAATAGATGGTATCA
 GAGCTTCTCTGGCTAAAGACGGGTAGGGGTGAAAGTTTCTTTGCTCCCTCCCCATCCATCCCCAGA
 CTCCTCGGGTCTGCAGAAATCCAGGAGCTGAAAACAGCCATCATCCAGGAGGCTGCAGGACTGCTGAA
 AGCAGCTGTTAACTCAGGTTTTTTTTTAAATAATAGGGAAATGAACACATAAGTACTTTGCTAAAGAAA
 ACGTGAAGTCACTGGCTAGGGAATAAAACTCACTTCACTGAAAGCTGAAGTACTATTTGATAAGCTAGAAA
 TATTTTTCCCTGAGTAGGCCACTGTAAAAGAAATGGCATGAAGTCACTCAACTGAAGAGACTCATTA
 TGGAAATAATCTTAAAGACAAAAAATTTGTACCTTTTTGGTGTCCACAGACTAAGGGCTTGTCTACAT
 TCACCATCATCTGTTCTTGTACCACAGAAACATGGAAGTTTTCTTTCCGAAGTTCAAGCTAGATCAGAA
 GTAAGAGATGCATGAGCTGCTTAGGCAGATGGGAATCAGAAAGAAATTTCTCACCTTTGCTGACCTTA
 GTGAAGTCTCAGCTACTGGAAGAAATCTCCAAGTATCCAGGGTAAGTCAAGGATCTTTCATCAGAGCCC
 AACCTCAGCATGAAATGTCCACCAAAACAAATGCTTTTACAAACCATTAACTTTGATAAAAATACCTAA
 TTGTAGTGGAAAAATAGATTTAAGTCCCAAAATACTTGAATAAGCACCCAGGTTGGATGTTTTAAGAAAT
 TTCAAGCAACTTCATTAATAAATAACTTTTCAACTAATTTATTTAAGCAGACCTCTCCCCCTCTGCTTAA
 AGTGTCTCAGGGAGAAAATTTGACCTGAAAATAGAAATGGTTTACAGAGGCATCATCTTATGTTGAAT
 ACAACTTGAATAGTTTCAAGAAATACACACCCTTTACAATGAACAAAGCCCTAGAGATCATCTAGGC
 CAACTTCTCCCTCTTGTGGAAATCCCTTCCATAGCCCTACGAAATAGCCCTTCAACTTCTCTTCCCTCT
 CATGCTTCCAGTGACATCAAACCTCACCATTCTTTGAAGAGCTGCCCAATCCACAAATAGCTAAAAAT
 GTTATATGTATATATATATATATGTGTATATATATATATATATATATATATATATATATATATATATAT
 TATATGTGTGTGTATATATATATATACACACACATATATATATATATATATATATATATATATATATAT
 ATGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGTCCGTGAACCTCTGATTCATACTTTTTGGTCCCTAGTTCTATCTCTAA
 AACTTCTAAGAAACAAAGTTTAGTCAACCTCCACATAGAAATCCCTTCAGTTACTCAGTGTCTCAGTGGG
 AAGGTTCTTGGTTTTGAGGGGCACTGCTTTGTGTCAGAGCAGGTTGTGCATGTTGCAGGGAAGTGTT
 AGCATTTGCTTGGCCCATGTTCAAGCTAATGCCAGTAGGAAACTCCAGTCACTCATATAAAAATGCTCCCA
 ACATTTCAAAATGGCAGCTACATCTCTACATCTCTTCTTACGCTGTGTGGTTTAAATATTTCTTATACA
 ATTGCAATTTTCAATTCCAAGAGAGACTAAAAATGGCATCCACTTAAAGTAGGACACAGTAGGGTAACT
 GTGGCTTGAATCAGGTCTTACAACCTCAAGAGAGGTAAGACAAATTAATAAAACAAATCCGTCAGAC
 CAGCACCTGAAAGTGTTCGTCTATGAACACATGAAAAACTGAAATGGCGTGTGCTTTATGAAAGGTT
 CATCATGAAATTTAAACTGTAAATGATTAATAATTTCTCCCTCTGTTTGTCTTGGGGAATTAATTTTCCCT
 TAGGAAATCAGGGAATTTCTGGAAGTGAATAATCAATGTAATACATGTTATGTTTTCATTATCTCTTAT
 AACACAGTAATATATATAGGTACATCACTCATATACATCTTGTGTTCTGTAAAAAAGGGCTTCCCAAA
 ATAGCAAGCAGGCACAGTATAGGCAGCCAGAATTCAGGAAGGCTCCAGGGACCCCTGGGCTTGGGCC
 AGAAAAATGCCCTCAGAGTACTACCAGGTGCTGGGAAGCTGCTACAGAAAGACTAGCCATTCCTGCTCT
 CACTTGGCTGCCAAAAAGGAAAGTCAAGGAGCTCAAGGGATCCAGGGATCAAGGGATCCAGGCAGCT
 TGAAAACCTTTTAGGAGCACCAGCTCAGCTCAAGAAATAGTAGCAATAAATTACATGCTCAATAAAGAT
 TTGATGCATGAGTGATCTGAGTCCATGCCCGGAATGTGTTTACATATTCACACAATACTTCACATTG
 GTTCTTGAGGCTCTCTGTGATTTGTTAAGAACTCTGTGBCAGTCCCTGGTGCACACCCAGACCACTCC
 TTTAAGCTAGATGGGCTGCTCCACTCAATTECCAGGACATGACCCATGGGTAGGACCACCTGTGAA
 GAATTTCAAGGGGCTCATTTAATTTCTCTTTTGACATGCCACACAAATGGTTTTTCATTATTTTCTTT
 TTCCAGGTTTTACAAAGAACAGTGATTGAAGTTGATGAAAGGGGCACTGAGGCAAGTGGCAGGAATCTT
 GTCAGAAATTAAGTCTTATTTCCATGCCCTCTGTATCAAAAGTGGACCGGCCATTTCAATTTCATGATCTA
 TGAAGAAACCTCTGGAATGCTTCTGTTTCTGGGCAAGGTGGTGAATCCGACTCTCTTATAAATTCAGGA
 CACGCATAAGCACCTTCGTGCTGTAGTAGATGCTGAATCTGAGGTATCAAAACACACACAGGATACCAGC
 AATGGATGGCAGGGGAGAGTGTTCCTTTTGTCTTAACTAGTTTAGGGTGTCTTCAAAATAAATACAGTA
 GTCCCCACTTATCTGAGGGGGATACATTCAAAGACCCCAAGCAGATGCCCTGAAACGGTGGACAGTGT
 GAACCTTATATATATTTTTTCTACACATACATACCTATGATAAAGTTTAAATTTATAAATTAAGCACAG
 TAAGAGATTAAACAATAATAACAACATTAAGTAAAAATGAATTAAGTTTGAATGCAAGCACTGCAATACCAT
 AACAGTCAAACCTGATTATAGAGAAGGGCTACTAAGTGACTCATGGGCGAGGAGCATAGACAGTGTGGA

[illegible]

AAATTIAAAATTTGGGAATGTCCGGGTACAACATATTGTCACCACAATCCGGAGGGCCGCCAAAAATCGC
 AGACGGCTATTTCATCTCTTCAGTGTGACTTTTCAAAGTGGGCTTGGAGACTCATGAGAAAAATGCAGT
 ATCTTTCTCAGCTTCCAAAGTCCCTTCCAAGTGTCTATCAAGCTAGGACAATTCAGCTGATGTAGACTT
 TCATACGATTTTAAATGCTAAACTCTAGAACAATTAATGCTGGTTTCTGTCACAAATAAAATGCA
 GACTTGTCTCTTTTGCAGCAGTGGTTAAAGCACATTCCTAGAGATGTTTTTCATTACACTTCACTATAA
 CATTGGAATTCCTAACCACATTATTACTCAAGAAATATATATTATACCTCCTAGGGAATCTAATTGGA
 AATATGAAAAAGTTTAAACATCAOCTGTCATTATGTCTCTCTTCTGCTCATTAAACAACAACAAAAAAA
 AAACCCAAAAATTTAAAAACAAAGCCCCAGCCACTGCTTTAGCTTTTGTGTACCAATCACATTATCTCT
 GCTGCTTTGTTTTGCTCTCTTCATCAAGCAGTTGATTTAAGGATTGGATTTCTGGATTTTCTTTTUGGA
 AGAAAAAGAAATGAAGGAAGAGAGAGGGAGGGTGGGGAAGGAGGGAGTGAAGAAAGGAGAAAAAGAAAA
 AAATATGAAAAATGTTATTATATATAATGTGTACAAAATAAATTAATAATATATAGATACTCTACTTTG
 AATAATTCTAATATATGAGAAAT

La Tabla 1 siguiente proporciona secuencias diana de ARNm de oligonucleósido de ZPI, junto con las posiciones correspondientes en el transcrito NM_016186.3. Debe entenderse que las SEQ ID NO: 2 a 121 se refieren a secuencias de ARNm humano (Homo sapiens).

5

Tabla 1

SEQ ID NO	Secuencia diana de ARNm de oligonucleósido 5'→3'	Posición de inicio en NM_016186.3
SEQ ID NO: 2	UUUGCCUUCAUCCACAAGGAUUU	991
SEQ ID NO: 3	GCUGCGAAAGAUCUCCAUGAGGC	756
SEQ ID NO: 4	AUGCUGGUGGUCCUCAUGGAGAA	1390
SEQ ID NO: 5	CUGCGAAAGAUCUCCAUGAGGCA	757
SEQ ID NO: 6	AAGUAUGAGAUGCAUGAGCUGCU	1531
SEQ ID NO: 7	CUGUUUGAUGAGAUUAAUCCUGA	1156
SEQ ID NO: 8	GAUGAGAUUAAUCCUGAAACCAA	1162
SEQ ID NO: 9	UUUGAUGAGAUUAAUCCUGAAAC	1159
SEQ ID NO: 10	UGAUGAGAUUAAUCCUGAAACCA	1161
SEQ ID NO: 11	UUGAUGAGAUUAAUCCUGAAACC	1160
SEQ ID NO: 12	AACUGUUUGAUGAGAUUAAUCCU	1154
SEQ ID NO: 13	AGUUUUGCCUUCAUCCACAAGGA	988
SEQ ID NO: 14	UGCGAAAGAUCUCCAUGAGGCAC	758
SEQ ID NO: 15	CAUGCUGGUGGUCCUCAUGGAGA	1389
SEQ ID NO: 16	UGCCUUCAUCCACAAGGAUUUUG	993
SEQ ID NO: 17	GCGAAAGAUCUCCAUGAGGCACG	759
SEQ ID NO: 18	CCUUCAUCCACAAGGAUUUUGAU	995
SEQ ID NO: 19	UGUUUGAUGAGAUUAAUCCUGAA	1157
SEQ ID NO: 20	UUUUGCCUUCAUCCACAAGGAUU	990
SEQ ID NO: 21	AAGAUCUCCAUGAGGCACGAUGG	763
SEQ ID NO: 22	ACCAUGCUGGUGGUCCUCAUGGA	1387
SEQ ID NO: 23	GUUUUGCCUUCAUCCACAAGGAU	989
SEQ ID NO: 24	UUGCCUUCAUCCACAAGGAUUUU	992
SEQ ID NO: 25	CCUACCAAGGAAUUGCCACCAUG	1370
SEQ ID NO: 26	GUUUGAUGAGAUUAAUCCUGAAA	1158
SEQ ID NO: 27	GCCUUCAUCCACAAGGAUUUUGA	994
SEQ ID NO: 28	CGAAAGAUCUCCAUGAGGCACGA	760

ES 3 024 951 T3

SEQ ID NO	Secuencia diana de ARNm de oligonucleósido 5'→3'	Posición de inicio en NM_016186.3
SEQ ID NO: 29	ACUGUUUGAUGAGAUUAAUCCUG	1155
SEQ ID NO: 30	CCAUGCUGGUGGUCCUCAUGGAG	1388
SEQ ID NO: 31	GAGUUUUGCCUUCAUCCACAAGG	987
SEQ ID NO: 32	UGCCACCAUGCUGGUGGUCCUCA	1383
SEQ ID NO: 33	GCCACCAUGCUGGUGGUCCUCAU	1384
SEQ ID NO: 34	GAAAGAUCUCCAUGAGGCACGAU	761
SEQ ID NO: 35	GGAGUUUUGCCUUCAUCCACAAG	986
SEQ ID NO: 36	CCACCAUGCUGGUGGUCCUCAUG	1385
SEQ ID NO: 37	AAAGAUCUCCAUGAGGCACGAUG	762
SEQ ID NO: 38	CACCAUGCUGGUGGUCCUCAUGG	1386
SEQ ID NO: 39	UUUGCCUCCACCUUUGACAAGAA	1321
SEQ ID NO: 40	UGCCUCCACCUUUGACAAGAAUU	1323
SEQ ID NO: 41	ACCAUUAAGGUGCCCAUGAUGUA	1285
SEQ ID NO: 42	AACUGCCCUACCAAGGAAAUGCC	1364
SEQ ID NO: 43	CUCAAACUGCCCUACCAAGGAAA	1360
SEQ ID NO: 44	CCUCAAACUGCCCUACCAAGGAA	1359
SEQ ID NO: 45	GCCUCCACCUUUGACAAGAAUUU	1324
SEQ ID NO: 46	GUCGACACUUUCCACCUGGACAA	1255
SEQ ID NO: 47	ACACUUUCCACCUGGACAAGUAC	1259
SEQ ID NO: 48	UCAAACUGCCCUACCAAGGAAAU	1361
SEQ ID NO: 49	AAACUGCCCUACCAAGGAAAUGC	1363
SEQ ID NO: 50	GACACUUUCCACCUGGACAAGUA	1258
SEQ ID NO: 51	GACCAUUAAGGUGCCCAUGAUGU	1284
SEQ ID NO: 52	GUUUGCCUCCACCUUUGACAAGA	1320
SEQ ID NO: 53	ACUUUCCACCUGGACAAGUACAA	1261
SEQ ID NO: 54	UGUCCUCAAACUGCCCUACCAAG	1356
SEQ ID NO: 55	CAAACUGCCCUACCAAGGAAAUG	1362
SEQ ID NO: 56	GUCCUCAAACUGCCCUACCAAGG	1357
SEQ ID NO: 57	AUGUCCUCAAACUGCCCUACCAA	1355
SEQ ID NO: 58	UCGACACUUUCCACCUGGACAAG	1256
SEQ ID NO: 59	AGUUUGCCUCCACCUUUGACAAG	1319
SEQ ID NO: 60	CGACACUUUCCACCUGGACAAGU	1257
SEQ ID NO: 61	CUUUUCCACCUGGACAAGUACAAG	1262
SEQ ID NO: 62	CACUUUCCACCUGGACAAGUACA	1260
SEQ ID NO: 63	UCCUCAAACUGCCCUACCAAGGA	1358
SEQ ID NO: 64	GAUUACAUCUUGUUCAAAGGGAA	1198
SEQ ID NO: 65	AAUGCCACCAUGCUGGUGGUCCU	1381
SEQ ID NO: 66	UUUAUCCAAGAGGUUUUUUGAUA	1038
SEQ ID NO: 67	GGAAAUGCCACCAUGCUGGUGGU	1378
SEQ ID NO: 68	GGAUUACAUCUUGUUCAAAGGGA	1197

ES 3 024 951 T3

SEQ ID NO	Secuencia diana de ARNm de oligonucleósido 5'→3'	Posición de inicio en NM_016186.3
SEQ ID NO: 69	AUCUCCAUGAGGCACGAUGGCAA	766
SEQ ID NO: 70	AUUCCAUGCCUCCUGUCAUCAA	1721
SEQ ID NO: 71	UUAUCCAUGCCUCCUGUCAUCA	1719
SEQ ID NO: 72	ACCAAGGAAAUGCCACCAUGCUG	1373
SEQ ID NO: 73	GCUGGUGGUCCUCAUGGAGAAAA	1392
SEQ ID NO: 74	ACAUCUUGUUCAAAGGGAAAUGG	1202
SEQ ID NO: 75	CCAAGGAAAUGCCACCAUGCUGG	1374
SEQ ID NO: 76	UUGCCUCCACCUUUGACAAGAAU	1322
SEQ ID NO: 77	GGGAGUUUUGCCUUCAUCCACAA	985
SEQ ID NO: 78	CUGCUGCGAAAGAUCUCCAUGAG	754
SEQ ID NO: 79	CAAGUUUGCCUCCACCUUUGACA	1317
SEQ ID NO: 80	AAGUUUGCCUCCACCUUUGACAA	1318
SEQ ID NO: 81	UACAUCUUGUUCAAAGGGAAAUG	1201
SEQ ID NO: 82	GGGGAGUUUUGCCUUCAUCCACA	984
SEQ ID NO: 83	UGCUGCGAAAGAUCUCCAUGAGG	755
SEQ ID NO: 84	UUCAUGCCUCCUGUCAUCAAAG	1722
SEQ ID NO: 85	UCUGUUUCUGGGCAGGGUGGUGA	1794
SEQ ID NO: 86	CAGCCUGCUGCGAAAGAUCUCCA	750
SEQ ID NO: 87	CAAACUGUUUGAUGAGAUUAAUC	1152
SEQ ID NO: 88	CCAUGCCUCCUGUCAUCAAAGUG	1724
SEQ ID NO: 89	GAAGUAUGAGAUGCAUGAGCUGC	1530
SEQ ID NO: 90	AGAAGUAUGAGAUGCAUGAGCUG	1529
SEQ ID NO: 91	CAUGUCCUCAAACUGCCCUACCA	1354
SEQ ID NO: 92	AAACUGUUUGAUGAGAUUAAUCC	1153
SEQ ID NO: 93	AAGACCAUUAAGGUGCCCAUGAU	1282
SEQ ID NO: 94	AGACCAUUAAGGUGCCCAUGAUG	1283
SEQ ID NO: 95	CUGUUUCUGGGCAGGGUGGUGAA	1795
SEQ ID NO: 96	GCUUCUGUUUCUGGGCAGGGUGG	1791
SEQ ID NO: 97	AGUUUUCUUUCCGAAGUUCAAGC	1500
SEQ ID NO: 98	GUUUUCUUUCCGAAGUUCAAGCU	1501
SEQ ID NO: 99	CUUCUGUUUCUGGGCAGGGUGGU	1792
SEQ ID NO: 100	UCAUGUCCUCAAACUGCCCUACC	1353
SEQ ID NO: 101	AGUCGACACUUUCCACCUUGACA	1254
SEQ ID NO: 102	CCUUCAUCCACAAGGAUUU	995
SEQ ID NO: 103	CGAAAGAUCUCCAUGAGGC	760
SEQ ID NO: 104	UGGUGGUCCUCAUGGAGAA	1394
SEQ ID NO: 105	GAAAGAUCUCCAUGAGGCA	761
SEQ ID NO: 106	AUGAGAUGCAUGAGCUGCU	1535
SEQ ID NO: 107	UUGAUGAGAUUAAUCCUGA	1160
SEQ ID NO: 108	AGAUUAAUCCUGAAACCAA	1166

SEQ ID NO	Secuencia diana de ARNm de oligonucleósido 5'→3'	Posición de inicio en NM_016186.3
SEQ ID NO: 109	AUGAGAUUAAUCCUGAAAC	1163
SEQ ID NO: 110	GAGAUUAAUCCUGAAACCA	1165
SEQ ID NO: 111	UGAGAUUAAUCCUGAAACC	1164
SEQ ID NO: 112	GUUUGAUGAGAUUAAUCCU	1158
SEQ ID NO: 113	UUGCCUUCAUCCACAAGGA	992
SEQ ID NO: 114	AAAGAUCUCCAUGAGGCAC	762
SEQ ID NO: 115	CUGGUGGUCCUCAUGGAGA	1393
SEQ ID NO: 116	UUCAUCCACAAGGAUUUUG	997
SEQ ID NO: 117	AAGAUCUCCAUGAGGCACG	763
SEQ ID NO: 118	CAUCCACAAGGAUUUUGAU	999
SEQ ID NO: 119	UGAUGAGAUUAAUCCUGAA	1161
SEQ ID NO: 120	GCCUUCAUCCACAAGGAUU	994
SEQ ID NO: 121	UCUCCAUGAGGCACGAUGG	767

La Tabla 2 proporciona las secuencias de la primera cadena no modificada (antisentido) y la segunda cadena no modificada correspondiente (con sentido) para oligonucleósidos de ARNsi según la presente invención, junto con las posiciones correspondientes en la secuencia génica global de SEQ ID NO: 1 como sigue.

5

Tabla 2

SEQ ID NO (AS)	Primera secuencia de bases de cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS)	Segunda secuencia de bases de cadena (con sentido) 5'→3'	Posiciones correspondientes en NM_016186.3
	(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)		(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
SEQ ID NO: 145	CAUGGUGGCAUUUCCUUGG UAGG	SEQ ID NO: 265	UACCAAGGAAAUGCCAC CAUG	1370-1391
SEQ ID NO: 148	UCGUGCCUCAUGGAGAUCU UUUG	SEQ ID NO: 268	AAAGAUCUCCAUGAGGC ACGA	760-781
SEQ ID NO: 122	AAAUCCUUGUGGAUGAAGG CAAA	SEQ ID NO: 242	UGCCUUCAUCCACAAGG AUUU	991-1012
SEQ ID NO: 123	GCCUCAUGGAGAUCUUUCG CAGC	SEQ ID NO: 243	UGCGAAAAGAUCUCCAUG AGGC	756-777
SEQ ID NO: 124	UUCUCCAUGAGGACCACCA GCAU	SEQ ID NO: 244	GCUGGUGGUCCUCAUGG AGAA	1390-1411
SEQ ID NO: 125	UGCCUCAUGGAGAUCUUUC GCAG	SEQ ID NO: 245	GCGAAAGAUCUCCAUGA GGCA	757-778
SEQ ID NO: 126	AGCAGCUCAUGCAUCUCAU ACUU	SEQ ID NO: 246	GUAUGAGAUGCAUGAGC UGCU	1531-1552
SEQ ID NO: 127	UCAGGAUUAAUCUCAUAA ACAG	SEQ ID NO: 247	GUUUGAUGAGAUUAAUC CUGA	1156-1177
SEQ ID NO: 128	UUGGUUUCAGGAUUAAUCU CAUC	SEQ ID NO: 248	UGAGAUUAAUCCUGAAA CCAA	1162-1183
SEQ ID NO: 129	GUUUCAGGAUUAAUCUCAU CAAA	SEQ ID NO: 249	UGAUGAGAUUAAUCCUG AAAC	1159-1180

ES 3 024 951 T3

SEQ ID NO (AS)	Primera secuencia de bases de cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS)	Segunda secuencia de bases de cadena (con sentido) 5'→3'	Posiciones correspondientes en NM_016186.3
	(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)		(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
SEQ ID NO: 130	UGGUUUCAGGAUUAUCUC AUCA	SEQ ID NO: 250	AUGAGAUUAUCCUGAA ACCA	1161-1182
SEQ ID NO: 131	GGUUUCAGGAUUAUCUCA UCAA	SEQ ID NO: 251	GAUGAGAUUAUCCUGA AACC	1160-1181
SEQ ID NO: 132	AGGAUUAUCUCAUCAAAC AGUU	SEQ ID NO: 252	CUGUUUGAUGAGAUUAA UCCU	1154-1175
SEQ ID NO: 133	UCCUUGUGGAUGAAGGCAA AACT	SEQ ID NO: 253	UUUUGCCUUCAUCCACA AGGA	988-1009
SEQ ID NO: 134	GUGCCUCAUGGAGAUUUU CGCA	SEQ ID NO: 254	CGAAAGAUCUCCAUGAG GCAC	758-779
SEQ ID NO: 135	UCUCCAUGAGGACCACCAG CAUG	SEQ ID NO: 255	UGCUGGUGGUCCUCAUG GAGA	1389-1410
SEQ ID NO: 136	CAAAAUCCUUGUGGAUGAA GGCA	SEQ ID NO: 256	CCUUCAUCCACAAGGAU UUUG	993-1014
SEQ ID NO: 137	CGUGCCUCAUGGAGAUUU UCCG	SEQ ID NO: 257	GAAAGAUCUCCAUGAGG CACG	759-780
SEQ ID NO: 138	AUCAAAAUCCUUGUGGAUG AAGG	SEQ ID NO: 258	UUCAUCCACAAGGAUUU UGAU	995-1016
SEQ ID NO: 139	UUCAGGAUUAUCUCAUCA AACA	SEQ ID NO: 259	UUUGAUGAGAUUAAUCC UGAA	1157-1178
SEQ ID NO: 140	AAUCCUUGUGGAUGAAGGC AAAA	SEQ ID NO: 260	UUGCCUUCAUCCACAAG GAUU	990-1011
SEQ ID NO: 141	CCAUCGUGCCUCAUGGAGA UCTU	SEQ ID NO: 261	GAUCUCCAUGAGGCACG AUGG	763-784
SEQ ID NO: 142	UCCAUGAGGACCACCAGCA UGGU	SEQ ID NO: 262	CAUGCUGGUGGUCCUCA UGGA	1387-1408
SEQ ID NO: 143	AUCCUUGUGGAUGAAGGCA AAAC	SEQ ID NO: 263	UUUGCCUUCAUCCACAA GGAU	989-1010
SEQ ID NO: 144	AAAAUCCUUGUGGAUGAAG GCAA	SEQ ID NO: 264	GCCUUCAUCCACAAGGA UUUU	992-1013
SEQ ID NO: 146	UUUCAGGAUUAUCUCAUC AAAC	SEQ ID NO: 266	UUGAUGAGAUUAUCCU GAAA	1158-1179
SEQ ID NO: 147	UCAAAAUCCUUGUGGAUGA AGCC	SEQ ID NO: 267	CUUCAUCCACAAGGAUU UUGA	994-1015
SEQ ID NO: 149	CAGGAUUAUCUCAUCAA CAGU	SEQ ID NO: 269	UGUUUGAUGAGAUUAAU CCUG	1155-1176
SEQ ID NO: 150	CUCCAUGAGGACCACCAGC AUGG	SEQ ID NO: 270	AUGCUGGUGGUCCUCAU GGAG	1388-1409
SEQ ID NO: 151	CCUUGUGGAUGAAGGCAAA ACTC	SEQ ID NO: 271	GUUUUGCCUUCAUCCAC AAGG	987-1008
SEQ ID NO: 152	UGAGGACCACCAGCAUGGU GGCA	SEQ ID NO: 272	CCACCAUGCUGGUGGUC CTCA	1383-1404

SEQ ID NO (AS)	Primera secuencia de bases de cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS)	Segunda secuencia de bases de cadena (con sentido) 5'→3'	Posiciones correspondientes en NM_016186.3
	(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)		(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
SEQ ID NO: 153	AUGAGGACCACCAGCAUGG UGGC	SEQ ID NO: 273	CACCAUGCUGGUGGUCC UCAU	1384-1405
SEQ ID NO: 154	AUCGUGCCUCAUGGAGAUC UUUC	SEQ ID NO: 274	AAGAUCUCCAUGAGGCA CGAU	761-782
SEQ ID NO: 155	CUUGUGGAUGAAGGCAAAA CUCC	SEQ ID NO: 275	AGUUUUGCCUUCAUCCA CAAG	986-1007
SEQ ID NO: 156	CAUGAGGACCACCAGCAUG GUGG	SEQ ID NO: 276	ACCAUGCUGGUGGUCCU CAUG	1385-1406
SEQ ID NO: 157	CAUCGUGCCUCAUGGAGAU CUUU	SEQ ID NO: 277	AGAUCUCCAUGAGGCAC GAUG	762-783
SEQ ID NO: 158	CCAUGAGGACCACCAGCAU GGUG	SEQ ID NO: 278	CCAUGCUGGUGGUCCUC AUGG	1386-1407
SEQ ID NO: 159	UUCUUGUCAAAAGGUGGAGG CAAA	SEQ ID NO: 279	UGCCUCCACCUUUGACA AGAA	1321-1342
SEQ ID NO: 160	AAUUCUUGUCAAAAGGUGGA GGCA	SEQ ID NO: 280	CCUCCACCUUUGACAAG AAUU	1323-1344
SEQ ID NO: 161	UACAUCAUGGGCACCUUAA UGGU	SEQ ID NO: 281	CAUUAAGGUGCCCAUGA UGUA	1285-1306
SEQ ID NO: 162	GGCAUUUCCUUGGUAGGGC AGUU	SEQ ID NO: 282	CUGCCCUACCAAGGAAA UGCC	1364-1385
SEQ ID NO: 163	UUUCCUUGGUAGGGCAGUU UGAG	SEQ ID NO: 283	CAAACUGCCCUACCAAG GAAA	1360-1381
SEQ ID NO: 164	UUCCUUGGUAGGGCAGUUU GAGG	SEQ ID NO: 284	UCAAACUGCCCUACCAA GGAA	1359-1380
SEQ ID NO: 165	AAAUUCUUGUCAAAAGGUGG AGGC	SEQ ID NO: 285	CUCCACCUUUGACAAGA AUUU	1324-1345
SEQ ID NO: 166	UUGUCCAGGUGGAAAGUGU CGAC	SEQ ID NO: 286	CGACACUUUCCACCUGG ACAA	1255-1276
SEQ ID NO: 167	GUACUUGUCCAGGUGGAAA GUGU	SEQ ID NO: 287	ACUUUCCACCUGGACAA GUAC	1259-1280
SEQ ID NO: 168	AUUUCCUUGGUAGGGCAGU UUGA	SEQ ID NO: 288	AAACUGCCCUACCAAGG AAAU	1361-1382
SEQ ID NO: 169	GCAUUUCCUUGGUAGGGCA GUUU	SEQ ID NO: 289	ACUGCCCUACCAAGGAA AUGC	1363-1384
SEQ ID NO: 170	UACUUGUCCAGGUGGAAAG UGUC	SEQ ID NO: 290	CACUUUCCACCUGGACA AGUA	1258-1279
SEQ ID NO: 171	ACAUCAUGGGCACCUUAAU GGUC	SEQ ID NO: 291	CCAUAAGGUGCCCAUG AUGU	1284-1305
SEQ ID NO: 172	UCUUGUCAAAAGGUGGAGGC AAAC	SEQ ID NO: 292	UUGCCUCCACCUUUGAC AAGA	1320-1341
SEQ ID NO: 173	UUGUACUUGUCCAGGUGGA AAGU	SEQ ID NO: 293	UUUCCACCUUGGACAAGU ACAA	1261-1282

SEQ ID NO (AS)	Primera secuencia de bases de cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS)	Segunda secuencia de bases de cadena (con sentido) 5'→3'	Posiciones correspondientes en NM_016186.3
	(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)		(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
SEQ ID NO: 174	CUUGGUAGGGCAGUUUGAG GACA	SEQ ID NO: 294	UCCUCAAACUGCCCUAC CAAG	1356-1377
SEQ ID NO: 175	CAUUUCCUUGGUAGGGCAG UUUG	SEQ ID NO: 295	AACUGCCCUACCAAGGA AAUG	1362-1383
SEQ ID NO: 176	CCUUGGUAGGGCAGUUUGA GGAC	SEQ ID NO: 296	CCUCAAACUGCCCUACC AAGG	1357-1378
SEQ ID NO: 177	UUGGUAGGGCAGUUUGAGG ACAU	SEQ ID NO: 297	GUCCUCAAACUGCCCUA CCAA	1355-1376
SEQ ID NO: 178	CUUGUCCAGGUGGAAAAGUG UUGA	SEQ ID NO: 298	GACACUUUCCACCUGGA CAAG	1256-1277
SEQ ID NO: 179	CUUGUCAAAGGUGGAGGCA AAAU	SEQ ID NO: 299	UUUGCCUCCACCUUUGA CAAG	1319-1340
SEQ ID NO: 180	ACUUGUCCAGGUGGAAAAGU GUCC	SEQ ID NO: 300	ACACUUUCCACCUGGAC AAGU	1257-1278
SEQ ID NO: 181	CUUGUACUUGUCCAGGUGG AAAG	SEQ ID NO: 301	UCCACCUGGACAAGUA CAAG	1262-1283
SEQ ID NO: 182	UGUACUUGUCCAGGUGGAA AGUG	SEQ ID NO: 302	CUUCCACCUGGACAAG UACA	1260-1281
SEQ ID NO: 183	UCCUUGGUAGGGCAGUUUG AGGA	SEQ ID NO: 303	CUCAAACUGCCCUACCA AGGA	1358-1379
SEQ ID NO: 184	UCCCCUUUGAACAAAGAUGU AAUC	SEQ ID NO: 304	UUACAUCUUGUCAAAG GGAA	1198-1219
SEQ ID NO: 185	AGGACCACCAGCAUGGUGG CAUU	SEQ ID NO: 305	UGCCACCAUGCUGGUGG UCCU	1381-1402
SEQ ID NO: 186	UAUCAAUUACCUCUUGGA UAAA	SEQ ID NO: 306	UAUCCAAGAGGUUUUU GAUA	1038-1059
SEQ ID NO: 187	ACCACCAGCAUGGUGGCAU UUCC	SEQ ID NO: 307	AAAUGCCACCAUGCUGG UGGU	1378-1399
SEQ ID NO: 188	UCCCUUUGAACAAAGAUGUA AUCC	SEQ ID NO: 308	AUUACAUCUUGUUCAAA GGGA	1197-1218
SEQ ID NO: 189	UUGCCAUCGUGCCUCAUGG AGAU	SEQ ID NO: 309	CUCCAUGAGGCACGAUG GCAA	766-787
SEQ ID NO: 190	UUUGAUGACAGGAGGCAUG GAAU	SEQ ID NO: 310	UCCAUGCCUCCUGUCAU CAAA	1721-1742
SEQ ID NO: 191	UGAUGACAGGAGGCAUGGA AUAA	SEQ ID NO: 311	AUCCAUGCCUCCUGUC AUCA	1719-1740
SEQ ID NO: 192	CAGCAUGGUGGCAUUUCCU UGGU	SEQ ID NO: 312	CAAGGAAAUGCCACCAU GCUG	1373-1394
SEQ ID NO: 193	UUUUCUCCAUGAGGACCAC CAGC	SEQ ID NO: 313	UGGUGGUCCUCAUGGAG AAAA	1392-1413
SEQ ID NO: 194	CCAUUUCCCUUGAACAAAG AUGU	SEQ ID NO: 314	AUCUUGUCAAAGGGAA AUGG	1202-1223

SEQ ID NO (AS)	Primera secuencia de bases de cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS)	Segunda secuencia de bases de cadena (con sentido) 5'→3'	Posiciones correspondientes en NM_016186.3
	(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)		(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
SEQ ID NO: 195	CCAGCAUGGUGGCAUUUCC UUUG	SEQ ID NO: 315	AAGGAAAUGCCACCAUG CUGG	1374-1395
SEQ ID NO: 196	AUUCUUGUCAAAAGGUGGAG GCAA	SEQ ID NO: 316	GCCUCCACCUUUGACAA GAAU	1322-1343
SEQ ID NO: 197	UUGUGGAUGAAGGCAAAAC UCCC	SEQ ID NO: 317	GAGUUUUGCCUUCAUCC ACAA	985-1006
SEQ ID NO: 198	CUCAUGGAGAUCUUUCGCA GCAG	SEQ ID NO: 318	GCUGCGAAAAGAUCUCCA UGAG	754-775
SEQ ID NO: 199	UGUCAAAAGGUGGAGGCAAA CUUG	SEQ ID NO: 319	AGUUUGCCUCCACCUUU GACA	1317-1338
SEQ ID NO: 200	UUGUCAAAAGGUGGAGGCAA ACUU	SEQ ID NO: 320	GUUUGCCUCCACCUUUG ACAA	1318-1339
SEQ ID NO: 201	CAUUUCCCUUUGAACAAAGA UGUA	SEQ ID NO: 321	CAUCUUGUCAAAGGGA AAUG	1201-1222
SEQ ID NO: 202	UGUGGAUGAAGGCAAAACU CCCC	SEQ ID NO: 322	GGAGUUUUGCCUUCAUC CACA	984-1005
SEQ ID NO: 203	CCUCAUGGAGAUCUUUCGC AGCA	SEQ ID NO: 323	CUGCGAAAAGAUCUCCAU GAGG	755-776
SEQ ID NO: 204	CUUUGAUGACAGGAGGCAU GGAA	SEQ ID NO: 324	CCAUGCCUCCUGUCAUC AAAG	1722-1743
SEQ ID NO: 205	UCACCACCCUGCCCAGAAA CAGA	SEQ ID NO: 325	UGUUUCUGGGCAGGGUG GUGA	1794-1815
SEQ ID NO: 206	UGGAGAUCUUUCGCAGCAG GCUG	SEQ ID NO: 326	GCCUGCUGCGAAAAGAUC UCCA	750-771
SEQ ID NO: 207	GAUUAUUCUCAUCAAACAG UUUG	SEQ ID NO: 327	AACUGUUUGAUGAGAUU AAUC	1152-1173
SEQ ID NO: 208	CACUUUGAUGACAGGAGGC AUGG	SEQ ID NO: 328	AUGCCUCCUGUCAUCAA AGUG	1724-1745
SEQ ID NO: 209	GCAGCUCAUGCAUCUCAUA CUUC	SEQ ID NO: 329	AGUAUGAGAUGCAUGAG CUGC	1530-1551
SEQ ID NO: 210	CAGCUCAUGCAUCUCAUAC UUUU	SEQ ID NO: 330	AAGUAUGAGAUGCAUGA GCUG	1529-1550
SEQ ID NO: 211	UGGUAGGGCAGUUUGAGGA CAUG	SEQ ID NO: 331	UGUCCUCAAACUGCCCU ACCA	1354-1375
SEQ ID NO: 212	GGAUUAUUCUCAUCAAACA GUUU	SEQ ID NO: 332	ACUGUUUGAUGAGAUUA AUCC	1153-1174
SEQ ID NO: 213	AUCAUGGGCACCUUAAUGG UCUU	SEQ ID NO: 333	GACCAUUAAGGUGCCCA UGAU	1282-1303
SEQ ID NO: 214	CAUCAUGGGCACCUUAAUG GUUU	SEQ ID NO: 334	ACCAUUAAGGUGCCCAU GAUG	1283-1304
SEQ ID NO: 215	UUCACCACCCUGCCCAGAA ACAG	SEQ ID NO: 335	GUUUCUGGGCAGGGUGG UGAA	1795-1816

ES 3 024 951 T3

SEQ ID NO (AS)	Primera secuencia de bases de cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS)	Segunda secuencia de bases de cadena (con sentido) 5'→3'	Posiciones correspondientes en NM_016186.3
	(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)		(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
SEQ ID NO: 216	CCACCCUGCCCAGAAACAG AAGC	SEQ ID NO: 336	UUCUGUUUCUGGGCAGG GUUG	1791-1812
SEQ ID NO: 217	GCUUGAACUUCGAAAGAA AACT	SEQ ID NO: 337	UUUUCUUUCCGAAGUUC AAGC	1500-1521
SEQ ID NO: 218	AGCUUGAACUUCGAAAGA AAAC	SEQ ID NO: 338	UUUCUUUCCGAAGUUC AGCU	1501-1522
SEQ ID NO: 219	ACCACCCUGCCCAGAAACA GAAG	SEQ ID NO: 339	UCUGUUUCUGGGCAGGG UGGU	1792-1813
SEQ ID NO: 220	GGUAGGGCAGUUUGAGGAC AUGA	SEQ ID NO: 340	AUGUCCUCAAACUGCCC UACC	1353-1374
SEQ ID NO: 221	UGUCCAGGUGGAAAGUGUC GACT	SEQ ID NO: 341	UCGACACUUUCCACCUG GACA	1254-1275
SEQ ID NO: 222	AAAUCCUUGUGGAUGAAGG	SEQ ID NO: 342	CCUUCAUCCACAAGGAU UU	995-1014
SEQ ID NO: 223	GCCUCAUGGAGAUCUUUCG	SEQ ID NO: 343	CGAAAGAUCUCCAUGAG GC	760-779
SEQ ID NO: 224	UUCUCCAUGAGGACCACCA	SEQ ID NO: 344	UGGUGGUCCUCAUGGAG AA	1394-1413
SEQ ID NO: 225	UGCCUCAUGGAGAUCUUUC	SEQ ID NO: 345	GAAAGAUCUCCAUGAGG CA	761-780
SEQ ID NO: 226	AGCAGCUCAUGCAUCUCAU	SEQ ID NO: 346	AUGAGAUGCAUGAGCUG CU	1535-1554
SEQ ID NO: 227	UCAGGAUUAUCUCAUCAA	SEQ ID NO: 347	UUGAUGAGAUUAAUCCU GA	1160-1179
SEQ ID NO: 228	UUGGUUUCAGGAUUAUUCU	SEQ ID NO: 348	AGAUUAAUCCUGAAACC AA	1166-1185
SEQ ID NO: 229	GUUUCAGGAUUAUCUCAU	SEQ ID NO: 349	AUGAGAUUAAUCCUGAA AC	1163-1182
SEQ ID NO: 230	UGGUUUCAGGAUUAUUCUC	SEQ ID NO: 350	GAGAUUAAUCCUGAAAC CA	1165-1184
SEQ ID NO: 231	GGUUUCAGGAUUAUUCUCA	SEQ ID NO: 351	UGAGAUUAAUCCUGAAA CC	1164-1183
SEQ ID NO: 232	AGGAUUAUUCUCAUCAAAC	SEQ ID NO: 352	GUUUGAUGAGAUUAAUC CT	1158-1177
SEQ ID NO: 233	UCCUUGUGGAUGAAGGCAA	SEQ ID NO: 353	UUGCCUUAUCCACAAG GA	992-1011
SEQ ID NO: 234	GUGCCUCAUGGAGAUCUUU	SEQ ID NO: 354	AAAGAUCUCCAUGAGGC AC	762-781
SEQ ID NO: 235	UCUCCAUGAGGACCACCAG	SEQ ID NO: 355	CUGGUGGUCCUCAUGGA GA	1393-1412
SEQ ID NO: 236	CAAAAUCCUUGUGGAUGAA	SEQ ID NO: 356	UUCAUCCACAAGGAUUU UG	997-1016

SEQ ID NO (AS)	Primera secuencia de bases de cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS)	Segunda secuencia de bases de cadena (con sentido) 5'→3'	Posiciones correspondientes en NM_016186.3
	(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)		(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
SEQ ID NO: 237	CGUGCCUCAUGGAGAUCUU	SEQ ID NO: 357	AAGAUCUCCAUGAGGCA CG	763-782
SEQ ID NO: 238	AUCAAAAUCCUUGUGGAUG	SEQ ID NO: 358	CAUCCACAAGGAUUUUG AU	999-1018
SEQ ID NO: 239	UUCAGGAUUAUUCUCAUCA	SEQ ID NO: 359	UGAUGAGAUUAAUCCUG AA	1161-1180
SEQ ID NO: 240	AAUCCUUGUGGAUGAAGGC	SEQ ID NO: 360	GCCUUCAUCCACAAGGA UU	994-1013
SEQ ID NO: 241	CCAUCGUGCCUCAUGGAGA	SEQ ID NO: 361	UCUCCAUGAGGCACGAU GG	767-786
SEQ ID NO: 787	AAAGUCCUUGUGGAUGAAG GCAA	SEQ ID NO: 791	GCCUUCAUCCACAAGGA UUUU	NA
SEQ ID NO: 788	AAUUCUUGUCAAAAGGUGG AGGC	SEQ ID NO: 792	CUCCACCUUUGACAAGA AGUU	NA
SEQ ID NO: 789	UGUGGAUGAAGGCAAAACU ACCC	SEQ ID NO: 793	GUAGUUUUGCCUUAUC CACA	NA

La Tabla 3 proporciona las primeras secuencias modificadas (antisentido), junto con las correspondientes primeras secuencias no modificadas (antisentido) para oligonucleósidos de ARNs_i según la presente invención, como sigue.

5

Tabla 3

ID de la cadena antisentido	Primera cadena modificada (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS1036	CmsAfsUmGfGmUfGmGmCmAmUmUmUmCfCmUfUmGmGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 764	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS1040	UmsCfsGmUfGmCfCmUmCmAmUmGmGmAfGmAfUmCmUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 766	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUUUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS632	AmsAfsAmUmCmCfUmUfGfUmGmGmAmUfGmAfAmGmGmCmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 362	AAAUCCUUGUGGAUG AAGGCAAA	SEQ ID NO: 122
ETXS634	GmsCfsCmUmCmAfUmGfGfAmGmAmUmCfUmUfUmCmGmCmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 363	GCCUCAUGGAGAUCU UUCGCAGC	SEQ ID NO: 123
ETXS636	UmsUfsCmUmCmCfAmUfGfAmGmGmAmCfCmAfCmCmAmGmCmsAmsUm	SEQ ID NO: 364	UUCUCCAUGAGGACC ACCAGCAU	SEQ ID NO: 124
ETXS638	UmsGfsCmUmCmAfUmUfGfGmAmGmAmUfCmUfUmUmCmGmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 365	UGCCUCAUGGAGAUC UUUCGCAG	SEQ ID NO: 125
ETXS640	AmsGfsCmAmGmCfUmCfAfUmGmCmAmUfCmUfCmAmUmAmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 366	AGCAGCUCAUGCAUC UCAUACUU	SEQ ID NO: 126
ETXS642	UmsCfsAmGmGmAfUmUfAfaUmCmUmCfAmUfCmAmAmAmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 367	UCAGGAUUAUUCUCA UCAAACAG	SEQ ID NO: 127

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS644	UmsUfsGmGmUmUfUmCfAfGmGmAm UmUfAmAfUmCmUmCmAmsUmsCm	SEQ ID NO: 368	UUGGUUUCAGGAUUA AUCUCAUC	SEQ ID NO: 128
ETXS646	GmsUfsUmUmCmAfGmGfAfUmUmAm AmUfCmUfCmAmUmCmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 369	GUUUCAGGAUUAUUC UCAUCAAA	SEQ ID NO: 129
ETXS648	UmsGfsGmUmUmUfCmAfGfGmAmUm UmAfAmUfCmUmCmAmUmsCmsAm	SEQ ID NO: 370	UGGUUUCAGGAUUA UCUCAUCA	SEQ ID NO: 130
ETXS650	GmsGfsUmUmUmCfAmGfGfAmUmUm AmAfUmCfUmCmAmUmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 371	GGUUUCAGGAUUAU CUCAUCA	SEQ ID NO: 131
ETXS652	AmsGfsGmAmUmUfAmAfUfCmUmCm AmUfCmAfAmAmCmAmGmsUmsUm	SEQ ID NO: 372	AGGAUUAUUCUCAUC AAACAGUU	SEQ ID NO: 132
ETXS654	UmsCfsCmUmUmGfUmGfGfAmUmGm AmAfGmGfCmAmAmAmAmsCmsUm	SEQ ID NO: 373	UCCUUGUGGAUGAAG GCAAAACU	SEQ ID NO: 133
ETXS656	GmsUfsGmCmCmUfCmAfUfGmGmAm CmAfUmCfUmUmUmCmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 374	GUGCCUCAUGGAGAU CUUUCGCA	SEQ ID NO: 134
ETXS658	UmsCfsUmCmCmAfUmGfAfGmGmAm CmCfAmCfCmAmCmCmAmsUmsGm	SEQ ID NO: 375	UCUCCAUGAGGACCA CCAGCAUG	SEQ ID NO: 135
ETXS660	CmsAfsAmAmAmUfCmCfUfUmGmUm GmGfAmUfCmAmAmCmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 376	CAAAAUCCUUGUGGA UGAAGGCA	SEQ ID NO: 136
ETXS662	CmsGfsUmGmCmCfUmCfAfUmGmGm AmGfAmUfCmUmUmUmCmsGmsCm	SEQ ID NO: 377	CGUGCCUCAUGGAGA UCUUUCGC	SEQ ID NO: 137
ETXS664	AmsUfsCmAmAmAfAmUfCfCmUmUm GmUfGmGfAmUmGmAmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 378	AUAAAAUCCUUGUG GAUGAAGG	SEQ ID NO: 138
ETXS666	UmsUfsCmAmGmGfAmUfUfAmAmUm CmUfCmAfUmCmAmAmAmsCmsAm	SEQ ID NO: 379	UUCAGGAUUAUUCUC AUCAAACA	SEQ ID NO: 139
ETXS668	AmsAfsUmCmCmUfUmGfUfGmGmAm UmGfAmAfCmGmCmAmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 380	AAUCCUUGUGGAUGA AGGCAAAA	SEQ ID NO: 140
ETXS670	CmsCfsAmUmCmGfUmGfCfCmUmCm AmUfGmGfAmGmAmUmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 381	CCAUCGUGCCUCAUG GAGAUUUU	SEQ ID NO: 141
ETXS672	UmsCfsCmAmUmGfAmGfGfAmCmCm AmCfCmAfGmCmAmUmGmsGmsUm	SEQ ID NO: 382	UCCAUGAGGACCACC AGCAUGGU	SEQ ID NO: 142
ETXS674	AmsUfsCmCmUmUfGmUfGfGmAmUm GmAfAmGfGmCmAmAmAmsAmsCm	SEQ ID NO: 383	AUCCUUGUGGAUGAA GGCAAAAC	SEQ ID NO: 143
ETXS676	AmsAfsAmAmUmCfCmUfUfGmUmGm GmAfUmGfAmAmGmGmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 384	AAAAUCCUUGUGGAU GAAGGCAA	SEQ ID NO: 144
ETXS678	CmsAfsUmGmGmUfGmGfCfAmUmUm UmCfCmUfUmGmGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 385	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS680	UmsUfsUmCmAmGfGmAfUfUmAmAm UmCfUmCfAmUmCmAmAmsAmsCm	SEQ ID NO: 386	UUUCAGGAUUAUUCU CAUCAAAC	SEQ ID NO: 146
ETXS682	UmsCfsAmAmAmAfUmCfCfUmUmGm UmGfGmAfUmGmAmAmGmsGmsCm	SEQ ID NO: 387	UCAAAAUCCUUGUGG AUGAAGGC	SEQ ID NO: 147
ETXS684	UmsCfsGmUmGmCfCmUfCfAmUmGm GmAfGmAfUmCmUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 388	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUUUCG	SEQ ID NO: 148

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS686	CmsAfsGmGmAmUfUmAfAfUmCmUm CmAfUmCfAmAmAmCmAmsGmsUm	SEQ ID NO: 389	CAGGAUUAUUCUCAU CAAACAGU	SEQ ID NO: 149
ETXS688	CmsUfsCmCmAmUfGmAfGfGmAmCm CmAfCmCfAmGmCmAmUmsGmsGm	SEQ ID NO: 390	CUCCAUGAGGACCAC CAGCAUGG	SEQ ID NO: 150
ETXS690	CmsCfsUmUmGmUfGmAfUmGmAm AmGfGmCfAmAmAmAmCmsUmsCm	SEQ ID NO: 391	CCUUGUGGAUGAAGG CAAAACTUC	SEQ ID NO: 151
ETXS692	UmsGfsAmGmGmAfCmCfAfCmCmAm GmCfAmUfGmGmUmGmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 392	UGAGGACCACCAGCA UGGUGGCA	SEQ ID NO: 152
ETXS694	AmsUfsGmAmGmGfAmCfCfAmCmCm AmGfCmAfUmGmGmUmGmsGmsCm	SEQ ID NO: 393	AUGAGGACCACCAGC AUGGUGGC	SEQ ID NO: 153
ETXS696	AmsUfsCmGmUmGfCmCfUfCmAmUm GmGfAmCfAmUmCmUmUmsUmsCm	SEQ ID NO: 394	AUCGUGCCUCAUGGA GAUCUUC	SEQ ID NO: 154
ETXS698	CmsUfsUmGmUmGfGmAfUfGmAmAm GmGfCmAfAmAmAmCmUmsCmsCm	SEQ ID NO: 395	CUUGUGGAUGAAGGC AAAACUCC	SEQ ID NO: 155
ETXS700	CmsAfsUmGmAmGfGmAfCfCmAmCm CmAfCmCfAmUmGmGmUmsGmsGm	SEQ ID NO: 396	CAUGAGGACCACCAG CAUGGUGG	SEQ ID NO: 156
ETXS702	CmsAfsUmCmGmUfGmCfCfUmCmAm UmGfGmAfGmAmUmCmUmsUmsUm	SEQ ID NO: 397	CAUCGUGCCUCAUGG AGAUCUUU	SEQ ID NO: 157
ETXS704	CmsCfsAmUmGmAfGmGfAfCmCmAm CmCfAmGfCmAmUmGmGmsUmsGm	SEQ ID NO: 398	CCAUGAGGACCACCA GCAUGGUG	SEQ ID NO: 158
ETXS706	UmsUfsCmUmUmGfUmCfAfAmAmGm GmUfGmGfAmGmGmCmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 399	UUCUUGUCAAAAGGUG GAGGCAAA	SEQ ID NO: 159
ETXS708	AmsAfsUmUmCmUfUmGfUfCmAmAm AmGfGmUfGmGmAmGmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 400	AAUUCUUGUCAAAAGG UGGAGGCA	SEQ ID NO: 160
ETXS710	UmsAfsCmAmUmCfAmUfGfGmGmCm AmCfCmUfUmAmAmUmGmsGmsUm	SEQ ID NO: 401	UACAUCAUGGGCACC UUAAUGGU	SEQ ID NO: 161
ETXS712	GmsGfsCmAmUmUfUmCfCfUmUmGm GmUfAmGfGmGmCmAmGmsUmsUm	SEQ ID NO: 402	GGCAUUUCCUUGGUA GGGCAGUU	SEQ ID NO: 162
ETXS714	UmsUfsUmCmCmUfUmGfGfUmAmGm GmGfCmAfGmUmUmUmGmsAmsGm	SEQ ID NO: 403	UUUCCUUGGUAGGGC AGUUUGAG	SEQ ID NO: 163
ETXS716	UmsUfsCmCmUmUfGmGfUfAmGmGm GmCfAmGfUmUmUmGmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 404	UUCCUUGGUAGGGCA GUUUGAGG	SEQ ID NO: 164
ETXS718	AmsAfsAmUmUmCfUmUfGfUmCmAm AmAfGmGfUmGmGmAmGmsGmsCm	SEQ ID NO: 405	AAAUUCUUGUCAAAAG GUGGAGGC	SEQ ID NO: 165
ETXS720	UmsUfsGmUmCmCfAmGfGfUmGmGm AmAfAmGfUmGmUmCmGmsAmsCm	SEQ ID NO: 406	UUGUCCAGGUGGAAA GUGUCGAC	SEQ ID NO: 166
ETXS722	GmsUfsAmCmUmUfGmUfCfCmAmGm GmUfGmGfAmAmAmCmUmsGmsUm	SEQ ID NO: 407	GUACUUGUCCAGGUG GAAAGUGU	SEQ ID NO: 167
ETXS724	AmsUfsUmUmCmCfUmUfGfGmUmAm GmGfGmCfAmGmUmUmUmsGmsAm	SEQ ID NO: 408	AUUUCCUUGGUAGGG CAGUUUGA	SEQ ID NO: 168
ETXS726	GmsCfsAmUmUmUfCmCfUfUmGmGm UmAfGmGfGmCmAmCmUmsUmsUm	SEQ ID NO: 409	GCAUUUCCUUGGUAG GGCAGUUU	SEQ ID NO: 169

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS728	UmsAfsCmUmUmGfUmCfCfAmGmGm UmGfGmAfAmAmGmUmGmsUmsCm	SEQ ID NO: 410	UACUUGUCCAGGUGG AAAGUGUC	SEQ ID NO: 170
ETXS730	AmsCfsAmUmCmAfUmGfGfGmCmAm CmCfUmUfAmAmUmGmGmsUmsCm	SEQ ID NO: 411	ACAUCAUGGGCACCU UAAUGGUC	SEQ ID NO: 171
ETXS732	UmsCfsUmUmGmUfCmAfAfAmGmGm UmGfGmAfGmCmCmAmAmsAmsCm	SEQ ID NO: 412	UCUUGUCAAGGUGG AGGCAAAC	SEQ ID NO: 172
ETXS734	UmsUfsGmUmAmCfUmUfGfUmCmCm AmGfGmUfGmCmAmAmAmsGmsUm	SEQ ID NO: 413	UUGUACUUGUCCAGG UGGAAAGU	SEQ ID NO: 173
ETXS736	CmsUfsUmGmGmUfAmGfGfGmCmAm GmUfUmUfGmAmGmGmAmsCmsAm	SEQ ID NO: 414	CUUGGUAGGGCAGUU UGAGGACA	SEQ ID NO: 174
ETXS738	CmsAfsUmUmUmCfCmUfUfGmGmUm AmGfGmGfCmAmGmUmUmsUmsGm	SEQ ID NO: 415	CAUUUCCUUGGUAGG GCAGUUUG	SEQ ID NO: 175
ETXS740	CmsCfsUmUmGmGfUmAfGfGmGmCm AmGfUmUfUmGmAmCmGmsAmsCm	SEQ ID NO: 416	CCUUGGUAGGGCAGU UUGAGGAC	SEQ ID NO: 176
ETXS742	UmsUfsGmGmUmAfGmGfGfCmAmGm UmUfUmGfAmGmGmAmCmsAmsUm	SEQ ID NO: 417	UUGGUAGGGCAGUUU GAGGACAU	SEQ ID NO: 177
ETXS744	CmsUfsUmGmUmCfCmAfGfGmUmGm GmAfAmAfGmUmGmUmCmsGmsAm	SEQ ID NO: 418	CUUGUCCAGGUGGAA AGUGUCGA	SEQ ID NO: 178
ETXS746	CmsUfsUmGmUmCfAmAfAfGmGmUm GmGfAmGfGmCmAmAmAmsCmsUm	SEQ ID NO: 419	CUUGUCAAGGUGGA GGCAAACU	SEQ ID NO: 179
ETXS748	AmsCfsUmUmGmUfCmCfAfGmGmUm GmGfAmAfAmGmUmGmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 420	ACUUGUCCAGGUGGA AAGUGUCG	SEQ ID NO: 180
ETXS750	CmsUfsUmGmUmAfCmUfUfGmUmCm CmAfCmGfUmGmGmAmAmsAmsGm	SEQ ID NO: 421	CUUGUACUUGUCCAG GUGGAAAG	SEQ ID NO: 181
ETXS752	UmsGfsUmAmCmUfUmGfUfCmCmAm GmGfUmGfGmAmAmAmGmsUmsGm	SEQ ID NO: 422	UGUACUUGUCCAGGU GGAAAGUG	SEQ ID NO: 182
ETXS754	UmsCfsCmUmUmGfGmUfAfGmGmGm CmAfGmUfUmUmGmAmGmsGmsAm	SEQ ID NO: 423	UCCUUGGUAGGGCAG UUUGAGGA	SEQ ID NO: 183
ETXS756	UmsUfsCmCmCmUfUmUfGfAmAmCm AmAfGmAfUmGmUmAmAmsUmsCm	SEQ ID NO: 424	UCCCCUUGAAACAAG AUGUAAUC	SEQ ID NO: 184
ETXS758	AmsGfsGmAmCmCfAmCfCfAmGmCm AmUfGmCfUmGmGmCmAmsUmsUm	SEQ ID NO: 425	AGGACCACCAGCAUG GUGGCAUU	SEQ ID NO: 185
ETXS760	UmsAfsUmCmAmAfAmAfUfAmCmCm UmCfUmUfGmGmAmUmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 426	UAUCAAAAUACCUCU UGGAUAAA	SEQ ID NO: 186
ETXS762	AmsCfsCmAmCmCfAmGfCfAmUmGm GmUfGmGfCmAmUmUmUmsCmsCm	SEQ ID NO: 427	ACCACCAGCAUGGUG GCAUUUCC	SEQ ID NO: 187
ETXS764	UmsCfsCmCmUmUfUmGfAfAmCmAm AmGfAmUfGmUmAmAmUmsCmsCm	SEQ ID NO: 428	UCCCCUUGAACAAGA UGUAAUCC	SEQ ID NO: 188
ETXS766	UmsUfsGmCmCmAfUmCfGfUmGmCm CmUfCmAfUmGmGmAmGmsAmsUm	SEQ ID NO: 429	UUGCCAUCGUGCCUC AUGGAGAU	SEQ ID NO: 189
ETXS768	UmsUfsUmGmAmUfGmAfCfAmGmGm AmGfGmCfAmUmGmGmAmsAmsUm	SEQ ID NO: 430	UUUGAUGACAGGAGG CAUGGAAU	SEQ ID NO: 190

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS770	UmsGfsAmUmGmAfCmAfGfGmAmGm GmCfAmUfGmGmAmAmUmsAmsAm	SEQ ID NO: 431	UGAUGACAGGAGGCA UGGAAUAA	SEQ ID NO: 191
ETXS772	CmsAfsGmCmAmUfGmGfUfGmGmCm AmUfUmUfCmCmUmUmGmsGmsUm	SEQ ID NO: 432	CAGCAUGGUGGCAUU UCCUUGGU	SEQ ID NO: 192
ETXS774	UmsUfsUmUmCmUfCmCfAfUmGmAm GmGfAmCfCmAmCmCmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 433	UUUUCUCCAUGAGGA CCACCAGC	SEQ ID NO: 193
ETXS776	CmsCfsAmUmUmUfCmCfCfUmUmUm GmAfAmCfAmAmGmAmUmsGmsUm	SEQ ID NO: 434	CCAUUUCCCUUGAA CAAGAUGU	SEQ ID NO: 194
ETXS778	CmsCfsAmGmCmAfUmGfGfUmGmGm CmAfUmUfUmCmCmUmUmsGmsGm	SEQ ID NO: 435	CCAGCAUGGUGGCAU UUCUUGG	SEQ ID NO: 195
ETXS780	AmsUfsUmCmUmUfGmUfCfAmAmAm GmGfUmGfGmAmGmGmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 436	AUUCUUGUCAAAAGGU GGAGGCAA	SEQ ID NO: 196
ETXS782	UmsUfsGmUmGmGfAmUfGfAmAmGm GmCfAmAfAmAmCmUmCmsCmsCm	SEQ ID NO: 437	UUGUGGAUGAAGGCA AAACTCCC	SEQ ID NO: 197
ETXS784	CmsUfsCmAmUmGfGmAfGfAmUmCm UmUfUmCfGmCmAmGmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 438	CUCAUGGAGAUCUUU CGCAGCAG	SEQ ID NO: 198
ETXS786	UmsGfsUmCmAmAfAmGfGfUmGmGm AmGfGmCfAmAmAmCmUmsUmsGm	SEQ ID NO: 439	UGUCAAAAGGUGGAGG CAAACUUG	SEQ ID NO: 199
ETXS788	UmsUfsGmUmCmAfAmAfGfGmUmGm GmAfGmGfCmAmAmAmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 440	UUGUCAAAAGGUGGAG GCAAACUU	SEQ ID NO: 200
ETXS790	CmsAfsUmUmUmCfCmCfUfUmUmGm AmAfCmAfAmGmAmUmGmsUmsAm	SEQ ID NO: 441	CAUUUCCCUUGAAC AAGAUGUA	SEQ ID NO: 201
ETXS792	UmsGfsUmGmGmAfUmGfAfAmGmGm CmAfAmAfAmCmUmCmCmsCmsCm	SEQ ID NO: 442	UGUGGAUGAAGGCAA AACTCCCC	SEQ ID NO: 202
ETXS794	CmsCfsUmCmAmUfGmGfAfGmAmUm CmUfUmUfCmGmCmAmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 443	CCUCAUGGAGAUCUU UCGCAGCA	SEQ ID NO: 203
ETXS796	CmsUfsUmUmGmAfUmGfAfCmAmGm GmAfGmGfCmAmUmGmGmsAmsAm	SEQ ID NO: 444	CUUUGAUGACAGGAG GCAUGGAA	SEQ ID NO: 204
ETXS798	UmsCfsAmCmCmAfCmCfCfUmGmCmC mCfAmGfAmAmAmCmAmsGmsAm	SEQ ID NO: 445	UCACCACCCUGCCCA GAAACAGA	SEQ ID NO: 205
ETXS800	UmsGfsGmAmGmAfUmCfUfUmUmCm GmCfAmGfCmAmGmGmCmsUmsGm	SEQ ID NO: 446	UGGAGAUCUUUCGCA GCAGGCUG	SEQ ID NO: 206
ETXS802	GmsAfsUmUmAmAfUmCfUfCmAmUm CmAfAmAfCmAmGmUmUmsUmsGm	SEQ ID NO: 447	GAUUAAUCUCAUCAA ACAGUUUG	SEQ ID NO: 207
ETXS804	CmsAfsCmUmUmUfGmAfUfGmAmCm AmGfGmAfGmGmCmAmUmsGmsGm	SEQ ID NO: 448	CACUUUGAUGACAGG AGGCAUGG	SEQ ID NO: 208
ETXS806	GmsCfsAmGmCmUfCmAfUfGmCmAm UmCfUmCfAmUmAmCmUmsUmsCm	SEQ ID NO: 449	GCAGCUCAUGCAUCU CAUACUUC	SEQ ID NO: 209
ETXS808	CmsAfsGmCmUmCfAmUfGfCmAmUm CmUfCmAfUmAmCmUmUmsCmsUm	SEQ ID NO: 450	CAGCUCAUGCAUCUC AUACTUCTU	SEQ ID NO: 210
ETXS810	UmsGfsGmUmAmGfGmGfCfAmGmUm UmUfGmAfGmGmAmCmAmsUmsGm	SEQ ID NO: 451	UGGUAGGGCAGUUUG AGGACAUG	SEQ ID NO: 211

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS812	GmsGfsAmUmUmAfAmUfCfUmCmAm UmCfAmAfAmCmAmGmUmsUmsUm	SEQ ID NO: 452	GGAUUAUUCUCAUA AACAGUUU	SEQ ID NO: 212
ETXS814	AmsUfsCmAmUmGfGmGfCfAmCmCm UmUfAmAfUmGmGmUmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 453	AUCAUGGGCACCUUA AUGGUCUU	SEQ ID NO: 213
ETXS816	CmsAfsUmCmAmUfGmGfGfCmAmCm CmUfUmAfAmUmCmGmUmsCmsUm	SEQ ID NO: 454	CAUCAUGGGCACCUU AAUGGUCU	SEQ ID NO: 214
ETXS818	UmsUfsCmAmCmCfAmCfCfCmUmGmC mCfCmAfCmAmAmAmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 455	UUCACCACCCUGCCC AGAAACAG	SEQ ID NO: 215
ETXS820	CmsCfsAmCmCmCfUmGfCfCmCmAmG mAfAmAfCmAmGmAmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 456	CCACCCUGCCCAGAA ACAGAAGC	SEQ ID NO: 216
ETXS822	GmsCfsUmUmGmAfAmCfUmCmGm GmAfAmAfGmAmAmAmAmsCmsUm	SEQ ID NO: 457	GCUUGAACUUCGGAA AGAAAACU	SEQ ID NO: 217
ETXS824	AmsGfsCmUmUmGfAmAfCfUmUmCm GmGfAmAfAmGmAmAmAmsAmsCm	SEQ ID NO: 458	AGCUUGAACUUCGGA AAGAAAAAC	SEQ ID NO: 218
ETXS826	AmsCfsCmAmCmCfCmUfGfCmCmCmA mGfAmAfAmCmAmGmAmsAmsGm	SEQ ID NO: 459	ACCACCCUGCCCAGA AACAGAAG	SEQ ID NO: 219
ETXS828	GmsGfsUmAmGmGfGmCfAfGmUmUm UmGfAmGfGmAmCmAmUmsGmsAm	SEQ ID NO: 460	GGUAGGGCAGUUUGA GGACAUGA	SEQ ID NO: 220
ETXS830	UmsGfsUmCmCmAfGmGfUfGmGmAm AmAfGmUfGmUmCmGmAmsCmsUm	SEQ ID NO: 461	UGUCCAGGUGGAAAG UGUCGACU	SEQ ID NO: 221
ETXS832	AmsAfsAmUfCmCfUmUfGmUfGmGfA mUfGmAfAmsGfsGm	SEQ ID NO: 462	AAAUCCUUGUGGAUG AAGG	SEQ ID NO: 222
ETXS834	GmsCfsCmUfCmAfUmGfGmAfGmAfU mCfUmUfUmsCfsGm	SEQ ID NO: 463	GCCUCAUGGAGAUCU UUCG	SEQ ID NO: 223
ETXS836	UmsUfsCmUfCmCfAmUfGmAfGmGfA mCfCmAfCmsCfsAm	SEQ ID NO: 464	UUCUCCAUGAGGACC ACCA	SEQ ID NO: 224
ETXS838	UmsGfsCmCfUmCfAmUfGmGfAmGfA mUfCmUfUmsUfsCm	SEQ ID NO: 465	UGCCUCAUGGAGAUC UUUC	SEQ ID NO: 225
ETXS840	AmsGfsCmAfGmCfUmCfAmUfGmCfA mUfCmUfCmsAfsUm	SEQ ID NO: 466	AGCAGCUCAUGCAUC UCAU	SEQ ID NO: 226
ETXS842	UmsCfsAmGfGmAfUmUfAmAfUmCfU mCfAmUfCmsAfsAm	SEQ ID NO: 467	UCAGGAUUAUUCUA UCAA	SEQ ID NO: 227
ETXS844	UmsUfsGmGfUmUfUmCfAmGfGmAfU mUfAmAfUmsCfsUm	SEQ ID NO: 468	UUGGUUUCAGGAUUA AUCU	SEQ ID NO: 228
ETXS846	GmsUfsUmUfCmAfGmGfAmUfUmAfA mUfCmUfCmsAfsUm	SEQ ID NO: 469	GUUUCAGGAUUAUUC UCAU	SEQ ID NO: 229
ETXS848	UmsGfsGmUfUmUfCmAfGmGfAmUfU mAfAmUfCmsUfsCm	SEQ ID NO: 470	UGGUUUCAGGAUUA UCUC	SEQ ID NO: 230
ETXS850	GmsGfsUmUfUmCfAmGfGmAfUmUfA mAfUmCfUmsCfsAm	SEQ ID NO: 471	GGUUUCAGGAUUAU CUCA	SEQ ID NO: 231
ETXS852	AmsGfsGmAfUmUfAmAfUmCfUmCfA mUfCmAfAmsAfsCm	SEQ ID NO: 472	AGGAUUAUUCUCAUC AAAC	SEQ ID NO: 232

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS854	UmsCfsCmUfUmGfUmGfGmAfUmGfA mAfGmGfCmsAfsAm	SEQ ID NO: 473	UCCUUGUGGAUGAAG GCAA	SEQ ID NO: 233
ETXS856	GmsUfsGmCfCmUfCmAfUmGfGmAfG mAfUmCfUmsUfsUm	SEQ ID NO: 474	GUGCCUCAUGGAGAU CUUUU	SEQ ID NO: 234
ETXS858	UmsCfsUmCfCmAfUmGfAmGfGmAfC mCfAmCfCmsAfsGm	SEQ ID NO: 475	UCUCCAUGAGGACCA CCAG	SEQ ID NO: 235
ETXS860	CmsAfsAmAFAmUfCmCfUmUfGmUfG mGfAmUfGmsAfsAm	SEQ ID NO: 476	CAAAAUCCUUGUGGA UGAA	SEQ ID NO: 236
ETXS862	CmsGfsUmGfCmCfUmCfAmUfGmGfA mGfAmUfCmsUfsUm	SEQ ID NO: 477	CGUGCCUCAUGGAGA UCUUU	SEQ ID NO: 237
ETXS864	AmsUfsCmAfAmAFAmUfCmCfUmUfG mUfGmGfAmsUfsGm	SEQ ID NO: 478	AUCAAAAUCCUUGUG GAUG	SEQ ID NO: 238
ETXS866	UmsUfsCmAfGmGfAmUfUmAFAmUfC mUfCmAfUmsCfsAm	SEQ ID NO: 479	UUCAGGAUUAUUCUC AUCA	SEQ ID NO: 239
ETXS868	AmsAfsUmCfCmUfUmGfUmGfGmAfU mGfAmAfGmsGfsCm	SEQ ID NO: 480	AAUCCUUGUGGAUGA AGGC	SEQ ID NO: 240
ETXS870	CmsCfsAmUfCmGfUmGfCmCfUmCfAm UfGmGfAmsGfsAm	SEQ ID NO: 481	CCAUCGUGCCUCAUG GAGA	SEQ ID NO: 241
ETXS872	AmsAfsAmUfCmCfUmUfGfUmGmGmA mUfGmAFAmGmGmCmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 482	AAAUCCUUGUGGAUG AAGGCAAA	SEQ ID NO: 122
ETXS874	GmsCfsCmUfCmAfUmGfGfAmGmAmU mCfUmUfUmCmGmCmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 483	GCCUCAUGGAGAUCU UUCGCGAGC	SEQ ID NO: 123
ETXS876	UmsUfsCmUfCmCfAmUfGfAmGmGmA mCfCmAfCmCmAmsGmsAmsUm	SEQ ID NO: 484	UUCUCCAUGAGGACC ACCAGCAU	SEQ ID NO: 124
ETXS878	UmsGfsCmCfUmCfAmUfGfGmAmsGmA mUfCmUfUmUmCmGmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 485	UGCCUCAUGGAGAUC UUUJCGCAG	SEQ ID NO: 125
ETXS880	AmsGfsCmAfGmCfUmCfAFAmGmCmA mUfCmUfCmAmsUmAmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 486	AGCAGCUCAUGCAUC UCAUACUU	SEQ ID NO: 126
ETXS882	UmsCfsAmGfGmAfUmUfAFAmUmCmU mCfAmUfCmAmsAmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 487	UCAGGAUUAUUCUCA UCAAAACAG	SEQ ID NO: 127
ETXS884	UmsUfsGmGfUmUfUmCfAFAmGmAmU mUfAmAFAmCmUmCmAmsUmsCm	SEQ ID NO: 488	UUGGUUUCAGGAUUA AUCUCAUC	SEQ ID NO: 128
ETXS886	GmsUfsUmUfCmAfGmGfAFAmUmAmA mUfCmUfCmAmsUmCmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 489	GUUUCAGGAUUAUUC UCAUCAAA	SEQ ID NO: 129
ETXS888	UmsGfsGmUfUmUfCmAfGfGmAmsUmU mAFAmUfCmUmCmAmsUmsAmsAm	SEQ ID NO: 490	UGGUUUCAGGAUUA UUCUCAUCA	SEQ ID NO: 130
ETXS890	GmsGfsUmUfUmCfAmGfGfAmUmUmA mAfUmCfUmCmAmsUmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 491	GGUUUCAGGAUUAU CUCAUCA	SEQ ID NO: 131
ETXS892	AmsGfsGmAfUmUfAmAFAmUfCmUmCmA mUfCmAFAmAmCmAmsUmsUm	SEQ ID NO: 492	AGGAUUAUUCUCAUC AAACAGUU	SEQ ID NO: 132
ETXS894	UmsCfsCmUfUmGfUmGfGfAmUmGmA mAfGmGfCmAmsAmAmsCmsUm	SEQ ID NO: 493	UCCUUGUGGAUGAAG GCAAAACU	SEQ ID NO: 133

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS896	GmsUfsGmCfCmUfCmAfUfGmGmAmG mAfUmCfUmUmUmCmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 494	GUGCCUCAUGGAGAU CUUUCGCA	SEQ ID NO: 134
ETXS898	UmsCfsUmCfCmAfUmGfAfGmGmAmC mCfAmCfCmAmCmCmAmsUmsGm	SEQ ID NO: 495	UCUCCAUGAGGACCA CCAGCAUG	SEQ ID NO: 135
ETXS900	CmsAfsAmAfAmUfCmCfUfUmGmUmG mGfAmUfCmAmAmGmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 496	CAAAAUCCUUGUGGA UGAAGGCA	SEQ ID NO: 136
ETXS902	CmsGfsUmGfCmCfUmCfAfUmGmGmA mGfAmUfCmUmUmUmCmsGmsCm	SEQ ID NO: 497	CGUGCCUCAUGGAGA UCUUCGCG	SEQ ID NO: 137
ETXS904	AmsUfsCmAfAmAfAmUfCfCmUmUmG mUfGmGfAmUmGmAmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 498	AUCAAAAUCCUUGUG GAUGAAGG	SEQ ID NO: 138
ETXS906	UmsUfsCmAfGmGfAmUfUfAmAmUmC mUfCmAfUmCmAmAmAmsCmsAm	SEQ ID NO: 499	UUCAGGAUUAUCUC AUCAAACA	SEQ ID NO: 139
ETXS908	AmsAfsUmCfCmUfUmGfUfGmGmAmU mGfAmAfGmGmCmAmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 500	AAUCCUUGUGGAUGA AGGCAAAA	SEQ ID NO: 140
ETXS910	CmsCfsAmUfCmGfUmGfCfCmUmCmA mUfGmGfAmGmAmUmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 501	CCAUCGUGCCUCAUG GAGAUCUU	SEQ ID NO: 141
ETXS912	AmsAfsAmUfCmCfUmUfGfUmGmGmA mUfGmAfAmGmGmCmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 502	AAAUCCUUGUGGAUG AAGGCAAA	SEQ ID NO: 122
ETXS914	GmsCfsCmUfCmAfUmGfGfAmGmAmU mCfUmUfUmCmGmCmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 503	GCCUCAUGGAGAUCU UUCGCAGC	SEQ ID NO: 123
ETXS916	UmsUfsCmUfCmCfAmUfGfAmGmGmA mCfCmAfCmCmAmGmCmsAmsUm	SEQ ID NO: 504	UUCUCCAUGAGGACC ACCAGCAU	SEQ ID NO: 124
ETXS918	UmsGfsCmCfUmCfAmUfGfGmAmGmA mUfCmUfUmUmCmGmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 505	UGCCUCAUGGAGAUC UUUCGCAG	SEQ ID NO: 125
ETXS920	AmsGfsCmAfGmCfUmCfAfUmGmCmA mUfCmUfCmAmUmAmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 506	AGCAGCUCAUGCAUC UCAUACUU	SEQ ID NO: 126
ETXS922	UmsCfsAmGfGmAfUmUfAfAmUmCmU mCfAmUfCmAmAmAmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 507	UCAGGAUUAUUCUCA UCAAACAG	SEQ ID NO: 127
ETXS924	UmsUfsGmGfUmUfUmCfAfGmGmAmU mUfAmAfUmCmUmCmAmsUmsCm	SEQ ID NO: 508	UUGGUUUCAGGAUUA AUCUCAUC	SEQ ID NO: 128
ETXS926	GmsUfsUmUfCmAfGmGfAfUmUmAmA mUfCmUfCmAmUmCmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 509	GUUUCAGGAUUAUUC UCAUCAA	SEQ ID NO: 129
ETXS928	UmsGfsGmUfUmUfCmAfGfGmAmUmU mAfAmUfCmUmCmAmUmsCmsAm	SEQ ID NO: 510	UGGUUUCAGGAUUA UCUCAUCA	SEQ ID NO: 130
ETXS930	GmsGfsUmUfUmCfAmGfGfAmUmUmA mAfUmCfUmCmAmUmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 511	GGUUUCAGGAUUAU CUCAUCAA	SEQ ID NO: 131
ETXS932	AmsGfsGmAfUmUfAmAfUfCmUmCmA mUfCmAfAmAmCmAmGmsUmsUm	SEQ ID NO: 512	AGGAUUAUUCUCAUC AAACAGUU	SEQ ID NO: 132
ETXS934	UmsCfsCmUfUmGfUmGfGfAmUmGmA mAfGmGfCmAmAmAmAmsCmsUm	SEQ ID NO: 513	UCCUUGUGGAUGAAG GCAAAACU	SEQ ID NO: 133
ETXS936	GmsUfsGmCfCmUfCmAfUfGmGmAmG mAfUmCfUmUmUmCmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 514	GUGCCUCAUGGAGAU CUUUCGCA	SEQ ID NO: 134

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS938	UmsCfsUmCfCmAfUmGfAfGmGmAmC mCfAmCfCmAmCmCmsUmsGm	SEQ ID NO: 515	UCUCCAUGAGGACCA CCAGCAUG	SEQ ID NO: 135
ETXS940	CmsAfsAmAfAmUfCmCfUfUmGmUmG mGfAmUfCmAmAmGmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 516	CAAAAUCCUUGUGGA UGAAGGCA	SEQ ID NO: 136
ETXS942	CmsGfsUmGfCmCfUmCfAfUmGmGmA mGfAmUfCmUmUmUmCmsGmsCm	SEQ ID NO: 517	CGUGCCUCAUGGAGA UCCUUCGCG	SEQ ID NO: 137
ETXS944	AmsUfsCmAfAmAfAmUfCfCmUmUmG mUfGmGfAmUmGmAmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 518	AUCAAAAUCCUUGUG GAUGAAGG	SEQ ID NO: 138
ETXS946	UmsUfsCmAfGmGfAmUfUfAmAmUmC mUfCmAfUmCmAmAmAmsCmsAm	SEQ ID NO: 519	UUCAGGAUUAUCUC AUCAAACA	SEQ ID NO: 139
ETXS948	AmsAfsUmCfCmUfUmGfUfGmGmAmU mCfAmAfGmGmCmAmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 520	AAUCCUUGUGGAUGA AGGCAAAA	SEQ ID NO: 140
ETXS950	CmsCfsAmUfCmGfUmGfCfCmUmCmA mUfCmGfAmGmAmUmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 521	CCAUCGUGCCUCAUG GAGAUCUU	SEQ ID NO: 141
ETXS952	AmsAfsAmUfCmCfUmUfGfUmGmGmA mUfGmAfAmGmGmCmAmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 522	AAUCCUUGUGGAUG AAGGCAAAA	SEQ ID NO: 122
ETXS954	GmsCfsCmUfCmAfUmGfGfAmGmAmU mCfUmUfUmCmGmCmAmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 523	GCCUCAUGGAGAUCU UUCGCGAGC	SEQ ID NO: 123
ETXS956	UmsUfsCmUfCmCfAmUfGfAmGmGmA mCfCmAfCmCmAmGmCmsAmsUm	SEQ ID NO: 524	UUCUCCAUGAGGACC ACCAGCAU	SEQ ID NO: 124
ETXS958	UmsGfsCmCfUmCfAmUfGfGmAmGmA mUfCmUfUmUmCmGmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 525	UGCCUCAUGGAGAUC UUCGCGCAG	SEQ ID NO: 125
ETXS960	AmsGfsCmAfGmCfUmCfAfUmGmCmA mUfCmUfCmAmUmAmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 526	AGCAGCUCAUGCAUC UCAUACUU	SEQ ID NO: 126
ETXS962	UmsCfsAmGfGmAfUmUfAfAmUmCmU mCfAmUfCmAmAmAmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 527	UCAGGAUUAUCUCA UCAAACAG	SEQ ID NO: 127
ETXS964	UmsUfsGmGfUmUfUmCfAfGmGmAmU mUfAmAfUmCmUmCmAmAmsUmsCm	SEQ ID NO: 528	UUGGUUUCAGGAUUA AUCUCAUC	SEQ ID NO: 128
ETXS966	GmsUfsUmUfCmAfGmGfAfUmUmAmA mUfCmUfCmAmUmCmAmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 529	GUUUCAGGAUUAUC UCAUCAA	SEQ ID NO: 129
ETXS968	UmsGfsGmUfUmUfCmAfGfGmAmUmU mAfAmUfCmUmCmAmUmsCmsAm	SEQ ID NO: 530	UGGUUUCAGGAUUA UCUCAUCA	SEQ ID NO: 130
ETXS970	GmsGfsUmUfUmCfAmGfGfAmUmUmA mAfUmCfUmCmAmUmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 531	GGUUUCAGGAUUAU CUCAUCAA	SEQ ID NO: 131
ETXS972	AmsGfsGmAfUmUfAmAfUfCmUmCmA mUfCmAfAmAmCmAmGmsUmsUm	SEQ ID NO: 532	AGGAUUAUCUCAUC AAACAGUU	SEQ ID NO: 132
ETXS974	UmsCfsCmUfUmGfUmGfGfAmUmGmA mAfGmGfCmAmAmAmAmsCmsUm	SEQ ID NO: 533	UCCUUGUGGAUGAAG GCAAAACU	SEQ ID NO: 133
ETXS976	GmsUfsGmCfCmUfCmAfUfGmGmAmG mAfUmCfUmUmUmCmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 534	GUGCCUCAUGGAGAU CUUUCGCA	SEQ ID NO: 134
ETXS978	UmsCfsUmCfCmAfUmGfAfGmGmAmC mCfAmCfCmAmCmCmsUmsGm	SEQ ID NO: 535	UCUCCAUGAGGACCA CCAGCAUG	SEQ ID NO: 135

ID de la cadena antisentido	Primera cadena modificada (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS980	CmsAfsAmAfAmUfCmCfUmGmUmGmGfAmUfCmAmAmGmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 536	CAAAAUCCUUGUGGAUGAAGGCA	SEQ ID NO: 136
ETXS982	CmsGfsUmGfCmCfUmCfAfUmGmGmA mGfAmUfCmUmUmUmCmsGmsCm	SEQ ID NO: 537	CGUGCCUCAUGGAGAUUUUUCGC	SEQ ID NO: 137
ETXS984	AmsUfsCmAfAmAfAmUfCfCmUmUmGmUfGmGfAmUmGmAmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 538	AUCAAAAUCCUUGUGGAUGAAGG	SEQ ID NO: 138
ETXS986	UmsUfsCmAfGmGfAmUfUfAmAmUmCmUfCmAfUmCmAmAmAmsCmsAm	SEQ ID NO: 539	UUCAGGAUUAUAAUCUCAUCAAACA	SEQ ID NO: 139
ETXS988	AmsAfsUmCfCmUfUmGfUfGmGmAmUmCfAmAfGmGmCmAmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 540	AAUCCUUGUGGAUGAAGGCAAAA	SEQ ID NO: 140
ETXS990	CmsCfsAmUfCmGfUmGfCfCmUmCmA mUfCmGfAmGmAmUmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 541	CCAUCGUGCCUCAUGGAGAUUUU	SEQ ID NO: 141
ETXS992	AmsAfsAmUfCmCfUmUmGmUmGmGmAmUfGmAfAmGmGmCmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 542	AAAUCCUUGUGGAUGAAGGCAAAA	SEQ ID NO: 122
ETXS994	GmsCfsCmUfCmAfUmGmGmAmGmAmUmCfUmUfUmCmGmCmAmsGmsCm	SEQ ID NO: 543	GCCUCAUGGAGAUUUUUCGCAGC	SEQ ID NO: 123
ETXS996	UmsUfsCmUfCmCfAmUmGmAmGmGmAmCfCmAfCmCmAmGmCmsAmsUm	SEQ ID NO: 544	UUCUCCAUGAGGACCACCAGCAU	SEQ ID NO: 124
ETXS998	UmsGfsCmCfUmCfAmUmGmGmAmGmAmUfCmUfUmUmCmGmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 545	UGCCUCAUGGAGAUUUUUCGCAG	SEQ ID NO: 125
ETXS1000	AmsGfsCmAfGmCfUmCmAmUmGmCmA mUfCmUfCmAmUmAmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 546	AGCAGCUCAUGCAUUCUAUACUU	SEQ ID NO: 126
ETXS1002	UmsCfsAmGfGmAfUmUmAmAmUmCmUmCfAmUfCmAmAmAmCmsAmsGm	SEQ ID NO: 547	UCAGGAUUAUAAUCUCAUCAAACAG	SEQ ID NO: 127
ETXS1004	UmsUfsGmGfUmUfUmCmAmGmGmA mUmUfAmAfUmCmUmCmAmsUmsCm	SEQ ID NO: 548	UUGGUUUCAGGAUUAUUCUCAUC	SEQ ID NO: 128
ETXS1006	GmsUfsUmUfCmAfGmGmAmUmUmAmAmUfCmUfCmAmUmCmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 549	GUUUCAGGAUUAUAAUCUCAUCAA	SEQ ID NO: 129
ETXS1008	UmsGfsGmUfUmUfCmAmGmGmAmUmUmAfAmUfCmUmCmAmsCmsAm	SEQ ID NO: 550	UGGUUUCAGGAUUAUUCUCAUCA	SEQ ID NO: 130
ETXS1010	GmsGfsUmUfUmCfAmGmGmAmUmUmAmAfUmCfUmCmAmUmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 551	GGUUUCAGGAUUAUUCUCAUCA	SEQ ID NO: 131
ETXS1012	AmsGfsGmAfUmUfAmAmUmCmUmCmA mUfCmAfAmAmCmAmsUmsUm	SEQ ID NO: 552	AGGAUUAUAAUCUCAUCAAACAGUU	SEQ ID NO: 132
ETXS1014	UmsCfsCmUfUmGfUmGmGmAmUmGmA mAfGmGfCmAmAmAmAmsCmsUm	SEQ ID NO: 553	UCCUUGUGGAUGAAGGCAAAACU	SEQ ID NO: 133
ETXS1016	GmsUfsGmCfCmUfCmAmUmGmGmAmGmAfUmCfUmUmUmCmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 554	GUGCCUCAUGGAGAUUUUUCGCA	SEQ ID NO: 134
ETXS1018	UmsCfsUmCfCmAfUmGmAmGmGmAmCmCfAmCfCmAmGmCmAmsUmsGm	SEQ ID NO: 555	UCUCCAUGAGGACCAACAGCAUG	SEQ ID NO: 135
ETXS1020	CmsAfsAmAfAmUfCmCmUmUmGmUmGmGfAmUfCmAmAmGmGmsCmsAm	SEQ ID NO: 556	CAAAAUCCUUGUGGAUGAAGGCA	SEQ ID NO: 136

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS1022	CmsGfsUmGfCmCfUmCmAmUmGmGm AmGfAmUfCmUmUmUmCmsGmsCm	SEQ ID NO: 557	CGUGCCUCAUGGAGA UCUULUCGC	SEQ ID NO: 137
ETXS1024	AmsUfsCmAfAmAfAmUmCmCmUmUm GmUfGmGfAmUmGmAmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 558	AUCAAAAUCCUUGUG GAUGAAGG	SEQ ID NO: 138
ETXS1026	UmsUfsCmAfGmGfAmUmUmAmAmU mCmUfCmAfUmCmAmAmAmsCmsAm	SEQ ID NO: 559	UUCAGGAUUAUCUC AUCAAACA	SEQ ID NO: 139
ETXS1028	AmsAfsUmCfCmUfUmGmUmGmGmAm UmGfAmAfGmGmCmAmAmsAmsAm	SEQ ID NO: 560	AAUCCUUGUGGAUGA AGGCAAAA	SEQ ID NO: 140
ETXS1030	CmsCfsAmUfCmGfUmGmCmCmUmCm AmUfGmGfAmGmAmUmCmsUmsUm	SEQ ID NO: 561	CCAUCGUGCCUCAUG GAGAUCUJ	SEQ ID NO: 141
ETXS1032	AmsAfsAmAfUmCfCmUmUmGmUmGm GmAfUmGfAmAmGmGmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 762	AAAAUCCUUGUGGAU GAAGGCAA	SEQ ID NO: 144
ETXS1034	AmsAfsAmAmUmCfCmUmUfGmUmGm GmAfUmGfAmAmGmGmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 763	AAAAUCCUUGUGGAU GAAGGCAA	SEQ ID NO: 144
ETXS1038	CmsAfsUmGmGmUfGmGmCfAmUmUm UmCfCmUfUmGmGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 765	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS1042	UmsCfsGmUmGmCfCmUmCfAmUmGm GmAfGmAfUmCmUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 767	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS1044	AmsAfsAmUfUmCfUmUmGmUmCmAm AmAfGmGfUmGmGmAmGmsGmsCm	SEQ ID NO: 768	AAAUCCUUGUCAAAAG GUGGAGGC	SEQ ID NO: 165
ETXS1046	AmsAfsAmUmUmCfUmUmGfUmCmAm AmAfGmGfUmGmGmAmGmsGmsCm	SEQ ID NO: 769	AAAUCCUUGUCAAAAG GUGGAGGC	SEQ ID NO: 165
ETXS1048	UmsGfsUmGfGmAfUmGmAmAmGmG mCmAfAmAfAmCmUmCmCmsCmsCm	SEQ ID NO: 770	UGUGGAUGAAGGCAA AACUCCCC	SEQ ID NO: 202
ETXS1050	UmsGfsUmGmGmAfUmGmAfAmGmG mCmAfAmAfAmCmUmCmCmsCmsCm	SEQ ID NO: 771	UGUGGAUGAAGGCAA AACUCCCC	SEQ ID NO: 202
ETXS1051	AmsAfsAmAmUmCfCmUmUmGmUmG mGmAfUmGfAmAfGmGmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 782	AAAAUCCUUGUGGAU GAAGGCAA	SEQ ID NO: 144
ETXS1052	CmsAfsUmGmGmUfGmGmCmAmUmU mUmCfCmUfUmGfGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 783	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS1053	UmsCfsGmUmGmCfCmUmCmAmUmG mGmAfGmAfUmCfUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 784	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS1054	AmsAfsAmUmUmCfUmUmGmUmCmA mAmAfGmGfUmGfGmAmGmsGmsCm	SEQ ID NO: 785	AAAUCCUUGUCAAAAG GUGGAGGC	SEQ ID NO: 165
ETXS1055	UmsGfsUmGmGmAfUmGmAmAmGmG mCmAfAmAfAmCfUmCmCmsCmsCm	SEQ ID NO: 786	UGUGGAUGAAGGCAA AACUCCCC	SEQ ID NO: 202
ETXS2128	AmsAfsAmGmUmCfCmUfUfGmUmGm GmAfUmGfAmAmGmGmCmsAmsAm	SEQ ID NO: 795	AAAGUCCUUGUGGAU GAAGGCAA	SEQ ID NO: 787
ETXS2144	AmsAfsCmUmUmCfUmUfGfUmCmAm AmAfGmGfUmGmGmAmGmsGmsCm	SEQ ID NO: 796	AA <u>C</u> UCCUUGUCAAAAG GUGGAGGC	SEQ ID NO: 788
ETXS2152	UmsGfsUmGmGmAfUmGfAfAmGmGm CmAfAmAfGmCmUmAmCmsCmsCm	SEQ ID NO: 797	UGUGGAUGAAGGCAA AGCU <u>A</u> CCC	SEQ ID NO: 789

ID de la cadena antisentido	Primera cadena (antisentido) 5'→3'	SEQ ID NO (AS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (AS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS2398	CmsAfsUmGmGmUfGmGmCfAmUmUm UmCfCmUfUmGmGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 801	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS2400	CmsAfsUmGmGmUfGmGmCmAmUmU mUmCfCmUfUmGfGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 802	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS2402	CmsAfsUmGmGmUoGmGmCmAmUmU mUmCfCmUfUmGmGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 803	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS2404	CmsAfsUmGmGmUoGmGfCfAmUmUm UmCfCmUfUmGmGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 804	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS2406	CmsAfsUmGmGmUfGmGmCmAmUmU mUmCfCmUfUmGmGmUfAmsGmsGm	SEQ ID NO: 805	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS2408	CmsAfsUmGfGmUfGmGmCmAmUmUm UmCfCmUfUmGmGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 806	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS2410	CmsAfsUmGfGmUfGmGfCfAmUmUmU mCfCmUfUmGmGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 807	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS2412	CmsAfsUmGmGmUfGmGfCfAmUmUm UmCfCmUfUmGfGmUmAmsGmsGm	SEQ ID NO: 808	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS2414	CmsAfsUmGmGmUfGmGfCfAmUmUm UmCfCmUfUmGmGmUfAmsGmsGm	SEQ ID NO: 809	CAUGGUGGCAUUUCC UUGGUAGG	SEQ ID NO: 145
ETXS2416	UmsCfsGmUmGmCfCmUmCfAmUmGm GmAfGmAfUmCmUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 810	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS2418	UmsCfsGmUmGmCfCmUmCmAmUmG mGmAfGmAfUmCfUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 811	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS2420	UmsCfsGmUmGmCoCmUmCmAmUmG mGmAfGmAfUmCmUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 812	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS2422	UmsCfsGmUmGmCoCmUfCfAmUmGm GmAfGmAfUmCmUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 813	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS2424	UmsCfsGmUmGmCfCmUmCmAmUmG mGmAfGmAfUmCmUmUfUmsCmsGm	SEQ ID NO: 814	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS2426	UmsCfsGmUfGmCfCmUmCmAmUmGm GmAfGmAfUmCmUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 815	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS2428	UmsCfsGmUfGmCfCmUfCfAmUmGmG mAfGmAfUmCmUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 816	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS2430	UmsCfsGmUmGmCfCmUfCfAmUmGm GmAfGmAfUmCfUmUmUmsCmsGm	SEQ ID NO: 817	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148
ETXS2432	UmsCfsGmUmGmCfCmUfCfAmUmGm GmAfGmAfUmCmUmUfUmsCmsGm	SEQ ID NO: 818	UCGUGCCUCAUGGAG AUCUULUCG	SEQ ID NO: 148

La Tabla 4 proporciona las segundas secuencias (con sentido) modificadas, junto con las correspondientes segundas secuencias (con sentido) no modificadas correspondientes para oligonucleósidos de ARNsi según la presente invención, como sigue.

Tabla 4

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS1035	iaiaUmsAmsCmCmAmAmGfGmAfAfA fUfCmCmCmAmCmCmAmUmGm	SEQ ID NO: 774	UACCAAGGAAAUGCCAC CAUG	SEQ ID NO: 265
ETXS1039	iaiaAmsAmsAmGmAmUmCfUmCfCfA fUfCmAmGmGmCmAmCmGmAm	SEQ ID NO: 776	AAAGAUCUCCAUGAGGC ACGA	SEQ ID NO: 268
ETXS631	UmsGmsCmCmUmUmCfAmUfCfCfA mCmAmAmGmGmAmUmUmUm	SEQ ID NO: 562	UGCCUUCAUCCACAAGG AUUU	SEQ ID NO: 242
ETXS633	UmsGmsCmGmAmAmAfGmAfUfCfU mCmCmAmUmGmAmGmGmCm	SEQ ID NO: 563	UGCGAAAAGAUCCCAUG AGGC	SEQ ID NO: 243
ETXS635	GmsCmsUmGmGmUmGfGmUfCfCfU mCmAmUmGmGmAmGmAmAm	SEQ ID NO: 564	GCUGGUGGUCCUCAUGG AGAA	SEQ ID NO: 244
ETXS637	GmsCmsGmAmAmAmGfAmUfCfUfC mCmAmUmGmAmGmGmCmAm	SEQ ID NO: 565	GCGAAAGAUCUCCAUGA GGCA	SEQ ID NO: 245
ETXS639	GmsUmsAmUmGmAmGfAmUfGfCfA mUmGmAmGmCmUmGmCmUm	SEQ ID NO: 566	GUAUGAGAUGCAUGAGC UGCU	SEQ ID NO: 246
ETXS641	GmsUmsUmUmGmAmUfGmAfGfAfU mUmAmAmUmCmCmUmGmAm	SEQ ID NO: 567	GUUUGAUGAGAUUAAUC CUGA	SEQ ID NO: 247
ETXS643	UmsGmsAmGmAmUmUfAmAfUfCfC mUmGmAmAmAmCmCmAmAm	SEQ ID NO: 568	UGAGAUUAAUCCUGAAA CCAA	SEQ ID NO: 248
ETXS645	UmsGmsAmUmGmAmGfAmUfUfAfA mUmCmCmUmGmAmAmAmCm	SEQ ID NO: 569	UGAUGAGAUUAAUCCUG AAAC	SEQ ID NO: 249
ETXS647	AmsUmsGmAmGmAmUfUmAfAfUfC mCmUmGmAmAmAmCmCmAm	SEQ ID NO: 570	AUGAGAUUAAUCCUGAA ACCA	SEQ ID NO: 250
ETXS649	GmsAmsUmGmAmGmAfUmUfAfAfU mCmCmUmGmAmAmAmCmCm	SEQ ID NO: 571	GAUGAGAUUAAUCCUGA AACC	SEQ ID NO: 251
ETXS651	CmsUmsGmUmUmUmGfAmUfGfAfG mAmUmUmAmAmUmCmCmUm	SEQ ID NO: 572	CUGUUUGAUGAGAUUAA UCCU	SEQ ID NO: 252
ETXS653	UmsUmsUmUmGmCmCfUmUfCfAfU mCmCmAmCmAmAmGmGmAm	SEQ ID NO: 573	UUUUGCCUUCAUCCACA AGGA	SEQ ID NO: 253
ETXS655	CmsGmsAmAmAmGmAfUmCfUfCfC mAmUmGmAmGmCmCmAmCm	SEQ ID NO: 574	CGAAAGAUCUCCAUGAG GCAC	SEQ ID NO: 254
ETXS657	UmsGmsCmUmGmGmUfGmGfUfCfC mUmCmAmUmGmGmAmGmAm	SEQ ID NO: 575	UGCUGGUGGUCCUCAUG GAGA	SEQ ID NO: 255
ETXS659	CmsCmsUmUmCmAmUfCmCfAfCfA mAmGmGmAmUmUmUmUmGm	SEQ ID NO: 576	CCUUCAUCCACAAGGAU UUUG	SEQ ID NO: 256
ETXS661	GmsAmsAmAmGmAmUfCmUfCfCfA mUmGmAmGmGmCmAmCmGm	SEQ ID NO: 577	GAAAGAUCUCCAUGAGG CACG	SEQ ID NO: 257
ETXS663	UmsUmsCmAmUmCmCfAmCfAfAfG mGmAmUmUmUmUmGmAmUm	SEQ ID NO: 578	UUCAUCCACAAGGAUUU UGAU	SEQ ID NO: 258
ETXS665	UmsUmsUmGmAmUmGfAmGfAfUfU mAmAmUmCmCmUmGmAmAm	SEQ ID NO: 579	UUUGAUGAGAUUAAUCC UGAA	SEQ ID NO: 259

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS667	UmsUmsGmCmCmUmUfCmAfUfCfCmAmCmAmAmGmGmAmUmUm	SEQ ID NO: 580	UUGCCUUCAUCCACAAGGAUU	SEQ ID NO: 260
ETXS669	GmsAmsUmCmUmCmCfAmUfGfAfGmCmCmAmCmGmAmUmGmGm	SEQ ID NO: 581	GAUCUCCAUGAGGCACGAUGG	SEQ ID NO: 261
ETXS671	CmsAmsUmGmCmUmGfGmUfGfGfUmCmCmUmCmAmUmGmGmAm	SEQ ID NO: 582	CAUGCUGGUGGUCCUCAUGGA	SEQ ID NO: 262
ETXS673	UmsUmsUmGmCmCmUfUmCfAfUfCmCmAmCmAmAmGmGmAmUm	SEQ ID NO: 583	UUUGCCUUCAUCCACAAAGGAU	SEQ ID NO: 263
ETXS675	GmsCmsCmUmUmCmAfUmCfCfAfCmAmAmGmGmAmUmUmUmUm	SEQ ID NO: 584	GCCUUCAUCCACAAGGAUUUUU	SEQ ID NO: 264
ETXS677	UmsAmsCmCmAmAmGfGmAfAfAfUmCmCmCmAmCmAmUmGm	SEQ ID NO: 585	UACCAAGGAAAUGCCACCAUG	SEQ ID NO: 265
ETXS679	UmsUmsGmAmUmGmAfGmAfUfUfAmAmUmCmCmUmGmAmAmAm	SEQ ID NO: 586	UUGAUGAGAUUAAUCCUGAAA	SEQ ID NO: 266
ETXS681	CmsUmsUmCmAmUmCfCmAfCfAfAmGmGmAmUmUmUmUmGmAm	SEQ ID NO: 587	CUUCAUCCACAAGGAUUUUGA	SEQ ID NO: 267
ETXS683	AmsAmsAmGmAmUmCfUmCfCfAfUmGmAmGmGmCmAmCmGmAm	SEQ ID NO: 588	AAAGAUCUCCAUGAGGCACGA	SEQ ID NO: 268
ETXS685	UmsGmsUmUmUmGmAfUmGfAfGfAmUmUmAmAmUmCmCmUmGm	SEQ ID NO: 589	UGUUUGAUGAGAUUAAUCCUG	SEQ ID NO: 269
ETXS687	AmsUmsGmCmUmGmGfUmGfGfUfCmCmUmCmAmUmGmGmAmGm	SEQ ID NO: 590	AUGCUGGUGGUCCUCAUGGAG	SEQ ID NO: 270
ETXS689	GmsUmsUmUmUmGmCfCmUfUfCfAmUmCmCmAmCmAmAmGmGm	SEQ ID NO: 591	GUUUUGCCUUCAUCCACAAGG	SEQ ID NO: 271
ETXS691	CmsCmsAmCmCmAmUfGmCfUfGfGmUmGmGmUmCmCmUmCmAm	SEQ ID NO: 592	CCACCAUGCUGGUGGUCCUCA	SEQ ID NO: 272
ETXS693	CmsAmsCmCmAmUmGfCmUfGfGfUmGmGmUmCmCmUmCmAmUm	SEQ ID NO: 593	CACCAUGCUGGUGGUCCUCAU	SEQ ID NO: 273
ETXS695	AmsAmsGmAmUmCmUfCmCfAfUfGmAmGmGmCmAmCmGmAmUm	SEQ ID NO: 594	AAGAUCUCCAUGAGGCACGAU	SEQ ID NO: 274
ETXS697	AmsGmsUmUmUmUmGfCmCfUfUfCmAmUmCmCmAmCmAmAmGm	SEQ ID NO: 595	AGUUUUGCCUUCAUCCACAAG	SEQ ID NO: 275
ETXS699	AmsCmsCmAmUmGmCfUmGfGfUfGmCmUmCmCmUmCmAmUmGm	SEQ ID NO: 596	ACCAUGCUGGUGGUCCUCAUG	SEQ ID NO: 276
ETXS701	AmsGmsAmUmCmUmCfCmAfUfGfAmGmGmCmAmCmGmAmUmGm	SEQ ID NO: 597	AGAUCUCCAUGAGGCACGAUG	SEQ ID NO: 277
ETXS703	CmsCmsAmUmGmCmUfGmGfUfGfGmUmCmCmUmCmAmUmGmGm	SEQ ID NO: 598	CCAUGCUGGUGGUCCUCAUGG	SEQ ID NO: 278
ETXS705	UmsGmsCmCmUmCmCfAmCfCfUfUmUmGmAmCmAmAmGmAmAm	SEQ ID NO: 599	UGCCUCCACCUUUGACAAGAA	SEQ ID NO: 279
ETXS707	CmsCmsUmCmCmAmCfCmUfUfUfGmAmCmAmAmGmAmAmUmUm	SEQ ID NO: 600	CCUCCACCUUUGACAAGAAUU	SEQ ID NO: 280

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS709	CmsAmsUmUmAmAmGfGmUfGfCfCmCmAmUmGmAmUmGmUmAm	SEQ ID NO: 601	CAUUAAGGUGCCCAUGAUGUA	SEQ ID NO: 281
ETXS711	CmsUmsGmCmCmCmUfAmCfCfAfAmGmGmAmAmAmUmGmCmCm	SEQ ID NO: 602	CUGCCCUACCAAGGAAAUGCC	SEQ ID NO: 282
ETXS713	CmsAmsAmAmCmUmGfCmCfCfUfAmCmCmAmAmGmGmAmAmAm	SEQ ID NO: 603	CAAACUGCCCUACCAAGGAAA	SEQ ID NO: 283
ETXS715	UmsCmsAmAmAmCmUfGmCfCfCfUmAmCmCmAmAmGmGmAmAm	SEQ ID NO: 604	UCAAACUGCCCUACCAA GGAA	SEQ ID NO: 284
ETXS717	CmsUmsCmCmAmCmCfUmUfUfGfAmCmAmAmGmAmAmUmUmUm	SEQ ID NO: 605	CUCCACCUUUGACAAGA AUUU	SEQ ID NO: 285
ETXS719	CmsGmsAmCmAmCmUfUmUfCfCfAmCmCmUmGmGmAmCmAmAm	SEQ ID NO: 606	CGACACUUUCCACCUGGACAA	SEQ ID NO: 286
ETXS721	AmsCmsUmUmUmCmCfAmCfCfUfGmGmAmCmAmAmGmUmAmCm	SEQ ID NO: 607	ACUUUCCACCUGGACAA GUAC	SEQ ID NO: 287
ETXS723	AmsAmsAmCmUmGmCfCmCfUfAfCmCmAmAmGmGmAmAmAmUm	SEQ ID NO: 608	AAACUGCCCUACCAAGG AAAU	SEQ ID NO: 288
ETXS725	AmsCmsUmGmCmCmCfUmAfCfCfAmAmGmGmAmAmAmUmGmCm	SEQ ID NO: 609	ACUGCCCUACCAAGGAA AUGC	SEQ ID NO: 289
ETXS727	CmsAmsCmUmUmUmCfCmAfCfCfUmGmGmAmCmAmAmGmUmAm	SEQ ID NO: 610	CACUUUCCACCUGGACA AGUA	SEQ ID NO: 290
ETXS729	CmsCmsAmUmUmAmAfGmGfUfGfCmCmCmAmUmGmAmUmGmUm	SEQ ID NO: 611	CCAUAAGGUGCCCAUG AUGU	SEQ ID NO: 291
ETXS731	UmsUmsGmCmCmUmCfCmAfCfCfUmUmUmGmAmCmAmAmGmAm	SEQ ID NO: 612	UUGCCUCCACCUUUGAC AAGA	SEQ ID NO: 292
ETXS733	UmsUmsUmCmCmAmCfCmUfGfGfAmCmAmAmGmUmAmCmAmAm	SEQ ID NO: 613	UUUCCACCUGGACAAGU ACAA	SEQ ID NO: 293
ETXS735	UmsCmsCmUmCmAmAfAmCfUfGfCmCmCmUmAmCmCmAmAmGm	SEQ ID NO: 614	UCCUAAAACUGCCCUAC CAAG	SEQ ID NO: 294
ETXS737	AmsAmsCmUmGmCmCfCmUfAfCfCmAmAmGmGmAmAmAmUmGm	SEQ ID NO: 615	AACUGCCCUACCAAGGA AAUG	SEQ ID NO: 295
ETXS739	CmsCmsUmCmAmAmAfCmUfGfCfCmCmUmAmCmCmAmAmGmGm	SEQ ID NO: 616	CCUAAAACUGCCCUACC AAGG	SEQ ID NO: 296
ETXS741	GmsUmsCmCmUmCmAfAmAfCfUfGmCmCmCmUmAmCmCmAmAm	SEQ ID NO: 617	GUCCUCAAAACUGCCCUA CCAA	SEQ ID NO: 297
ETXS743	GmsAmsCmAmCmUmUfUmCfCfAfCmCmUmGmGmAmCmAmAmGm	SEQ ID NO: 618	GACACUUUCCACCUGGA CAAG	SEQ ID NO: 298
ETXS745	UmsUmsUmGmCmCmUfCmCfAfCfCmUmUmUmGmAmCmAmAmGm	SEQ ID NO: 619	UUUGCCUCCACCUUUGA CAAG	SEQ ID NO: 299
ETXS747	AmsCmsAmCmUmUmUfCmCfAfCfCmUmGmGmAmCmAmAmGmUm	SEQ ID NO: 620	ACACUUUCCACCUGGAC AAGU	SEQ ID NO: 300
ETXS749	UmsUmsCmCmAmCmCfUmGfGfAfCmAmAmGmUmAmCmAmAmGm	SEQ ID NO: 621	UUCACCCUGGACAAGUA CAAG	SEQ ID NO: 301

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS751	CmsUmsUmUmCmCmAfCmCfUfGfGmAmCmAmAmGmUmAmCmAm	SEQ ID NO: 622	CUUUCCACCUGGACAAG UACA	SEQ ID NO: 302
ETXS753	CmsUmsCmAmAmAmCfUmGfCfCfCmUmAmCmCmAmAmGmGmAm	SEQ ID NO: 623	CUCAAAACUGCCCUACCA AGGA	SEQ ID NO: 303
ETXS755	UmsUmsAmCmAmUmCfUmUfGfUfUmCmAmAmAmGmGmCmAmAm	SEQ ID NO: 624	UUACAUCUUGUUCAAAAG GGAA	SEQ ID NO: 304
ETXS757	UmsGmsCmCmAmCmCfAmUfGfCfUmGmGmUmGmCmUmCmCmUm	SEQ ID NO: 625	UGCCACCAUGCUGGUGG UCCU	SEQ ID NO: 305
ETXS759	UmsAmsUmCmCmAmAfGmAfGfGfUmAmUmUmUmUmGmAmUmAm	SEQ ID NO: 626	UAUCCAAGAGGUUUUU GAUA	SEQ ID NO: 306
ETXS761	AmsAmsAmUmGmCmCfAmCfCfAfUmGmCmUmGmGmUmGmGmUm	SEQ ID NO: 627	AAAUGCCACCAUGCUGG UGGU	SEQ ID NO: 307
ETXS763	AmsUmsUmAmCmAmUfCmUfUfGfUmUmCmAmAmAmGmGmGmAm	SEQ ID NO: 628	AUUACAUCUUGUUCAAA GGGA	SEQ ID NO: 308
ETXS765	CmsUmsCmCmAmUmGfAmGfGfCfAmCmGmAmUmGmGmCmAmAm	SEQ ID NO: 629	CUCCAUGAGGCACGAUG GCAA	SEQ ID NO: 309
ETXS767	UmsCmsCmAmUmGmCfCmUfCfCfUmGmUmCmAmUmCmAmAmAm	SEQ ID NO: 630	UCCAUGCCUCCUGUCAU CAAA	SEQ ID NO: 310
ETXS769	AmsUmsUmCmCmAmUfGmCfCfUfCmCmUmGmUmCmAmUmCmAm	SEQ ID NO: 631	AUUCCAUGCCUCCUGUC AUCA	SEQ ID NO: 311
ETXS771	CmsAmsAmGmGmAmAfAmUfGfCfCmAmCmCmAmUmGmCmUmGm	SEQ ID NO: 632	CAAGGAAAUGCCACCAU GCTG	SEQ ID NO: 312
ETXS773	UmsGmsGmUmGmGmUfCmCfUfCfAmUmGmGmAmCmAmAmAmAm	SEQ ID NO: 633	UGGUGGUCCUCAUGGAG AAAA	SEQ ID NO: 313
ETXS775	AmsUmsCmUmUmGmUfUmCfAfAfAmGmGmGmAmAmAmUmGmGm	SEQ ID NO: 634	AUCUUGUUCAAAAGGGAA AUGG	SEQ ID NO: 314
ETXS777	AmsAmsGmGmAmAmAfUmGfCfCfAmCmCmAmUmGmCmUmGmGm	SEQ ID NO: 635	AAGGAAAUGCCACCAUG CUGG	SEQ ID NO: 315
ETXS779	GmsCmsCmUmCmCmAfCmCfUfUfUmGmAmCmAmAmGmAmAmUm	SEQ ID NO: 636	GCCUCCACCUUUGACAA GAAU	SEQ ID NO: 316
ETXS781	GmsAmsGmUmUmUmUfGmCfCfUfUmCmAmUmCmCmAmCmAmAm	SEQ ID NO: 637	GAGUUUUGCCUUCAUCC ACAA	SEQ ID NO: 317
ETXS783	GmsCmsUmGmCmGmAfAmAfGfAfUmCmUmCmCmAmUmCmAmGm	SEQ ID NO: 638	GCUGCGAAAGAUCUCCA UGAG	SEQ ID NO: 318
ETXS785	AmsGmsUmUmUmGmCfCmUfCfCfAmCmCmUmUmUmGmAmCmAm	SEQ ID NO: 639	AGUUUGCCUCCACCUUU GACA	SEQ ID NO: 319
ETXS787	GmsUmsUmUmGmCmCfUmCfCfAfCmCmUmUmUmGmAmCmAmAm	SEQ ID NO: 640	GUUUGCCUCCACCUUUG ACAA	SEQ ID NO: 320
ETXS789	CmsAmsUmCmUmUmGfUmUfCfAfAmAmGmGmGmAmAmAmUmGm	SEQ ID NO: 641	CAUCUUGUUCAAAAGGGA AAUG	SEQ ID NO: 321
ETXS791	CmsGmsAmGmUmUmUfUmGfCfCfUmUmCmAmUmCmCmAmCmAm	SEQ ID NO: 642	GGAGUUUUGCCUUCAUC CACA	SEQ ID NO: 322

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS793	CmsUmsGmCmGmAmAfAmGfAfUfCmUmCmCmAmUmGmAmGmGm	SEQ ID NO: 643	CUGCGAAAAGAUCUCCAU GAGG	SEQ ID NO: 323
ETXS795	CmsCmsAmUmGmCmCfUmCfCfUfGmUmCmAmUmCmAmAmAmGm	SEQ ID NO: 644	CCAUGCCUCCUGUCAUC AAAG	SEQ ID NO: 324
ETXS797	UmsGmsUmUmUmCmUfGmGfGfCfAmGmGmGmUmGmGmUmGmAm	SEQ ID NO: 645	UGUUUCUGGGCAGGGUG GUGA	SEQ ID NO: 325
ETXS799	GmsCmsCmUmGmCmUfGmCfGfAfAmAmGmAmUmCmUmCmCmAm	SEQ ID NO: 646	GCCUGCUGCGAAAAGAUC UCCA	SEQ ID NO: 326
ETXS801	AmsAmsCmUmGmUmUfUmGfAfUfGmAmGmAmUmUmAmAmUmCm	SEQ ID NO: 647	AACUGUUUGAUGAGAUAU AAUC	SEQ ID NO: 327
ETXS803	AmsUmsGmCmCmUmCfCmUfGfUfCmAmUmCmAmAmAmGmUmGm	SEQ ID NO: 648	AUGCCUCCUGUCAUCAA AGUG	SEQ ID NO: 328
ETXS805	AmsGmsUmAmUmGmAfGmAfUfGfCmAmUmGmAmGmCmUmGmCm	SEQ ID NO: 649	AGUAUGAGAUGCAUGAG CUGC	SEQ ID NO: 329
ETXS807	AmsAmsGmUmAmUmGfAmGfAfUfGmCmAmUmGmAmGmCmUmGm	SEQ ID NO: 650	AAGUAUGAGAUGCAUGA GCUG	SEQ ID NO: 330
ETXS809	UmsGmsUmCmCmUmCfAmAfAfCfUmGmCmCmUmAmCmCmAm	SEQ ID NO: 651	UGUCCUCAAACUGCCCU ACCA	SEQ ID NO: 331
ETXS811	AmsCmsUmGmUmUmUfGmAfUfGfAmGmAmUmUmAmAmUmCmCm	SEQ ID NO: 652	ACUGUUUGAUGAGAUAU AUCC	SEQ ID NO: 332
ETXS813	GmsAmsCmCmAmUmUfAmAfGfGfUmGmCmCmCmAmUmGmAmUm	SEQ ID NO: 653	GACCAUUAAGGUGCCCA UGAU	SEQ ID NO: 333
ETXS815	AmsCmsCmAmUmUmAfAmGfGfUfGmCmCmCmAmUmGmAmUmGm	SEQ ID NO: 654	ACCAUUAAGGUGCCCAU GAUG	SEQ ID NO: 334
ETXS817	GmsUmsUmUmCmUmGfGmGfCfAfGmGmGmUmGmGmUmGmAmAm	SEQ ID NO: 655	GUUUCUGGGCAGGGUGG UGAA	SEQ ID NO: 335
ETXS819	UmsUmsCmUmGmUmUfUmCfUfGfGmCmCmAmGmGmGmUmGmGm	SEQ ID NO: 656	UUCUGUUUCUGGGCAGG GUGG	SEQ ID NO: 336
ETXS821	UmsUmsUmUmCmUmUfUmCfCfGfAmAmGmUmUmCmAmAmGmCm	SEQ ID NO: 657	UUUUCUUUCCGAAGUUC AAGC	SEQ ID NO: 337
ETXS823	UmsUmsUmCmUmUmUfCmCfGfAfAmGmUmUmCmAmAmGmCmUm	SEQ ID NO: 658	UUUCUUUCCGAAGUUCA AGCU	SEQ ID NO: 338
ETXS825	UmsCmsUmGmUmUmUfCmUfGfGfGmCmAmGmGmGmUmGmGmUm	SEQ ID NO: 659	UCUGUUUCUGGGCAGGG UGGU	SEQ ID NO: 339
ETXS827	AmsUmsGmUmCmCmUfCmAfAfAfCmUmGmCmCmCmUmAmCmCm	SEQ ID NO: 660	AUGUCCUCAAACUGCCC UACC	SEQ ID NO: 340
ETXS829	UmsCmsGmAmCmAmCfUmUfUfCfCmAmCmCmUmGmGmAmCmAm	SEQ ID NO: 661	UCGACACUUUCCACCUG GACA	SEQ ID NO: 341
ETXS831	CfsCmsUfUmCfAmUfCmCfAmCfAmAfGmGfAmUfUmUf	SEQ ID NO: 662	CCUUCAUCCACAAGGAU UUU	SEQ ID NO: 342
ETXS833	CfsGmsAfAmAfGmAfUmCfUmCfCmAfUmCfAmGfGmCf	SEQ ID NO: 663	CGAAAAGAUCUCCAUGAG GC	SEQ ID NO: 343

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS835	UfsGmsGfUmGfGmUfCmCfUmCfAmUfGmCfAmGfAmAf	SEQ ID NO: 664	UGGUGGUCCUCAUGGAGAA	SEQ ID NO: 344
ETXS837	GfsAmsAfAmGfAmUfCmUfCmCfAmUfGmAfGmGfCmAf	SEQ ID NO: 665	GAAAGAUCUCCAUGAGGCA	SEQ ID NO: 345
ETXS839	AfsUmsGfAmGfAmUfGmCfAmUfGmAfGmCfUmGfCmUf	SEQ ID NO: 666	AUGAGAUGCAUGAGCUGCU	SEQ ID NO: 346
ETXS841	UfsUmsGfAmUfGmAfGmAfUmUfAmAfUmCfCmUfGmAf	SEQ ID NO: 667	UUGAUGAGAUUAAUCCUGA	SEQ ID NO: 347
ETXS843	AfsGmsAfUmUfAmAfUmCfCmUfGmAfAmAfCmCfAmAf	SEQ ID NO: 668	AGAUUAAUCCUGAAACC	SEQ ID NO: 348
ETXS845	AfsUmsGfAmGfAmUfUmAfAmUfCmCfUmGfAmAfAmCf	SEQ ID NO: 669	AUGAGAUUAAUCCUGAAAC	SEQ ID NO: 349
ETXS847	GfsAmsGfAmUfUmAfAmUfCmCfUmGfAmAfAmCfCmAf	SEQ ID NO: 670	GAGAUUAAUCCUGAAACCA	SEQ ID NO: 350
ETXS849	UfsGmsAfGmAfUmUfAmAfUmCfCmUfGmAfAmAfCmCf	SEQ ID NO: 671	UGAGAUUAAUCCUGAAACC	SEQ ID NO: 351
ETXS851	GfsUmsUfUmGfAmUfGmAfGmAfUmUfAmAfUmCfCmUf	SEQ ID NO: 672	GUUUGAUGAGAUUAAUCCU	SEQ ID NO: 352
ETXS853	UfsUmsGfCmCfUmUfCmAfUmCfCmAfCmAfAmGfGmAf	SEQ ID NO: 673	UUGCCUUAUCCACAAGGA	SEQ ID NO: 353
ETXS855	AfsAmsAfGmAfUmCfUmCfCmAfUmGfAmCfGmCfAmCf	SEQ ID NO: 674	AAAGAUCUCCAUGAGGCCAC	SEQ ID NO: 354
ETXS857	CfsUmsGfGmUfGmGfUmCfCmUfCmAfUmGfGmAfGmAf	SEQ ID NO: 675	CUGGUGGUCCUCAUGGGA	SEQ ID NO: 355
ETXS859	UfsUmsCfAmUfCmCfAmCfAmAfGmGfAmUfUmUfUmGf	SEQ ID NO: 676	UUCAUCCACAAGGAUUUUG	SEQ ID NO: 356
ETXS861	AfsAmsGfAmUfCmUfCmCfAmUfGmAfGmGfCmAfCmGf	SEQ ID NO: 677	AAGAUCUCCAUGAGGCA	SEQ ID NO: 357
ETXS863	CfsAmsUfCmCfAmCfAmAfGmGfAmUfUmUfUmGfAmUf	SEQ ID NO: 678	CAUCCACAAGGAUUUUGAU	SEQ ID NO: 358
ETXS865	UfsGmsAfUmGfAmGfAmUfUmAfAmUfCmCfUmGfAmAf	SEQ ID NO: 679	UGAUGAGAUUAAUCCUGAA	SEQ ID NO: 359
ETXS867	GfsCmsCfUmUfCmAfUmCfCmAfCmAfAmGfCmAfUmUf	SEQ ID NO: 680	GCCUUAUCCACAAGGAUUU	SEQ ID NO: 360
ETXS869	UfsCmsUfCmCfAmUfGmAfGmGfCmAfCmGfAmUfGmGf	SEQ ID NO: 681	UCUCCAUGAGGCACGAU	SEQ ID NO: 361
ETXS871	UmsGmsCmCmUmUmCfAfUfCfCfAmCmAmaGmGmAmaUfUmUm	SEQ ID NO: 682	UGCCUUAUCCACAAGGAUUU	SEQ ID NO: 242
ETXS873	UmsGmsCmGmAmaAfGfAfUfCfUmCmAmaUmGmAmaGfGmCm	SEQ ID NO: 683	UGCGAAAGAUCUCCAUGAGGC	SEQ ID NO: 243
ETXS875	GmsCmsUmGmGmUmGfGfUfCfCfUmCmAmaUmGmGmAmaCfAmAm	SEQ ID NO: 684	GCUGGUGGUCCUCAUGGAGAA	SEQ ID NO: 244

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS877	GmsCmsGmAmAmAmGfAfUfCfUfCm CmAmUmGmAmGmCfCmAm	SEQ ID NO: 685	GCGAAAAGAUCUCCAUGA GGCA	SEQ ID NO: 245
ETXS879	GmsUmsAmUmGmAmGfAfUfGfCfAm UmGmAmGmCmUmGfCmUm	SEQ ID NO: 686	GUAUGAGAUGCAUGAGC UGCU	SEQ ID NO: 246
ETXS881	GmsUmsUmUmGmAmUfGfAfGfAfUm UmAmAmUmCmCmUfGmAm	SEQ ID NO: 687	GUUUGAUGAGAUUAAUC CUGA	SEQ ID NO: 247
ETXS883	UmsGmsAmGmAmUmUfAfAfUfCfCm UmGmAmAmAmCmCfAmAm	SEQ ID NO: 688	UGAGAUUAAUCCUGAAA CCAA	SEQ ID NO: 248
ETXS885	UmsGmsAmUmGmAmGfAfUfUfAfAm UmCmCmUmGmAmAfAmCm	SEQ ID NO: 689	UGAUGAGAUUAAUCCUG AAAC	SEQ ID NO: 249
ETXS887	AmsUmsGmAmGmAmUfUfAfAfUfCm CmUmGmAmAmAmCfCmAm	SEQ ID NO: 690	AUGAGAUUAAUCCUGAA ACCA	SEQ ID NO: 250
ETXS889	GmsAmsUmGmAmGmAfUfUfAfAfUm CmCmUmGmAmAmAfCmCm	SEQ ID NO: 691	GAUGAGAUUAAUCCUGA AACC	SEQ ID NO: 251
ETXS891	CmsUmsGmUmUmUmGfAfUfGfAfGm AmUmUmAmAmUmCfCmUm	SEQ ID NO: 692	CUGUUUGAUGAGAUUAA UCCU	SEQ ID NO: 252
ETXS893	UmsUmsUmUmGmCmCfUfUfCfAfUm CmCmAmCmAmAmGfGmAm	SEQ ID NO: 693	UUUUGCCUUAUCCACA AGGA	SEQ ID NO: 253
ETXS895	CmsGmsAmAmAmGmAfUfCfUfCfCm AmUmGmAmGmGmCfAmCm	SEQ ID NO: 694	CGAAAAGAUCUCCAUGAG GCAC	SEQ ID NO: 254
ETXS897	UmsGmsCmUmGmGmUfGfGfUfCfCm UmCmAmUmGmGmAfGmAm	SEQ ID NO: 695	UGCUGGUGGUCCUCAUG GAGA	SEQ ID NO: 255
ETXS899	CmsCmsUmUmCmAmUfCfCfAfCfAm AmGmGmAmUmUmUfUmGm	SEQ ID NO: 696	CCUUCAUCCACAAGGAU UUUG	SEQ ID NO: 256
ETXS901	GmsAmsAmAmGmAmUfCfUfCfCfAm UmGmAmGmGmCmAfCmGm	SEQ ID NO: 697	GAAAGAUCUCCAUGAGG CACG	SEQ ID NO: 257
ETXS903	UmsUmsCmAmUmCmCfAfCfAfAfGm GmAmUmUmUmUmGfAmUm	SEQ ID NO: 698	UUCAUCCACAAGGAUUU UGAU	SEQ ID NO: 258
ETXS905	UmsUmsUmGmAmUmGfAfGfAfUfUm AmAmUmCmCmUmGfAmAm	SEQ ID NO: 699	UUUGAUGAGAUUAAUCC UGAA	SEQ ID NO: 259
ETXS907	UmsUmsGmCmCmUmUfCfAfUfCfCm AmCmAmAmCmGmAfUmUm	SEQ ID NO: 700	UUGCCUUAUCCACAAG GAUU	SEQ ID NO: 260
ETXS909	GmsAmsUmCmUmCmCfAfUfGfAfGm GmCmAmCmGmAmUfGmGm	SEQ ID NO: 701	GAUCUCCAUGAGGCACG AUGG	SEQ ID NO: 261
ETXS911	UmsGmsCmCmUmUfCfAmUfCfCfAfC mAmAmGmGmAmUmUmUm	SEQ ID NO: 702	UGCCUUAUCCACAAGG AUUU	SEQ ID NO: 242
ETXS913	UmsGmsCmGmAmAfAfGmAfUfCfUf CmCmAmUmGmAmGmGmCm	SEQ ID NO: 703	UGCGAAAAGAUCUCCAUG AGGC	SEQ ID NO: 243
ETXS915	GmsCmsUmGmGmUfGfGmUfCfCfUfC mAmUmGmGmAmGmAmAm	SEQ ID NO: 704	GCUGGUGGUCCUCAUGG AGAA	SEQ ID NO: 244
ETXS917	GmsCmsGmAmAmAfGfAmUfCfUfCfC mAmUmGmAmGmGmCmAm	SEQ ID NO: 705	GCGAAAAGAUCUCCAUGA GGCA	SEQ ID NO: 245

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS919	GmsUmsAmUmGmAfGfAmUfGfCfAfUmGmAmGmCmUmGmCmUm	SEQ ID NO: 706	GUAUGAGAUGCAUGAGCUGCU	SEQ ID NO: 246
ETXS921	GmsUmsUmUmGmAfUfGmAfGfAfUfUmAmAmUmCmCmUmGmAm	SEQ ID NO: 707	GUUUGAUGAGAUUAAUCUGA	SEQ ID NO: 247
ETXS923	UmsGmsAmGmAmUfUfAmAfUfCfCfUmGmAmAmAmCmCmAmAm	SEQ ID NO: 708	UGAGAUUAAUCCUGAAA CCAA	SEQ ID NO: 248
ETXS925	UmsGmsAmUmGmAfGfAmUfUfAfAfUmCmCmUmGmAmAmAmCm	SEQ ID NO: 709	UGAUGAGAUUAAUCCUGAAAC	SEQ ID NO: 249
ETXS927	AmsUmsGmAmGmAfUfUmAfAfUfCfCmUmGmAmAmAmCmCmAm	SEQ ID NO: 710	AUGAGAUUAAUCCUGAAACCA	SEQ ID NO: 250
ETXS929	GmsAmsUmGmAmGfAfUmUfAfAfUfCmCmUmGmAmAmAmCmCm	SEQ ID NO: 711	GAUGAGAUUAAUCCUGAAACC	SEQ ID NO: 251
ETXS931	CmsUmsGmUmUmUfGfAmUfGfAfGfAmUmUmAmAmUmCmCmUm	SEQ ID NO: 712	CUGUUUGAUGAGAUUAAUCCU	SEQ ID NO: 252
ETXS933	UmsUmsUmUmGmCfCfUmUfCfAfUfCmCmAmCmAmAmGmGmAm	SEQ ID NO: 713	UUUUGCCUUAUCCACAGGA	SEQ ID NO: 253
ETXS935	CmsGmsAmAmAmGfAfUmCfUfCfCfAmUmGmAmGmGmCmAmCm	SEQ ID NO: 714	CGAAAGAUCUCCAUGAGGCAC	SEQ ID NO: 254
ETXS937	UmsGmsCmUmGmGfUfGmGfUfCfCfUmCmAmUmGmGmAmGmAm	SEQ ID NO: 715	UGCUGGUGGUCCUCAUGGAGA	SEQ ID NO: 255
ETXS939	CmsCmsUmUmCmAfUfCmCfAfCfAfAmGmGmAmUmUmUmUmGm	SEQ ID NO: 716	CCUUCAUCCACAAGGAUULUG	SEQ ID NO: 256
ETXS941	GmsAmsAmAmGmAfUfCmUfCfCfAfUmGmAmGmGmCmAmCmGm	SEQ ID NO: 717	GAAAGAUCUCCAUGAGGCACG	SEQ ID NO: 257
ETXS943	UmsUmsCmAmUmCfCfAmCfAfAfGfGmAmUmUmUmUmGmAmUm	SEQ ID NO: 718	UUCAUCCACAAGGAUUUUGAU	SEQ ID NO: 258
ETXS945	UmsUmsUmGmAmUfGfAmGfAfUfUfAmAmUmCmCmUmGmAmAm	SEQ ID NO: 719	UUUGAUGAGAUUAAUCCUGAA	SEQ ID NO: 259
ETXS947	UmsUmsGmCmCmUfUfCmAfUfCfCfAmCmAmAmGmGmAmUmUm	SEQ ID NO: 720	UUGCCUUAUCCACAAGGAUU	SEQ ID NO: 260
ETXS949	GmsAmsUmCmUmCfCfAmUfGfAfGfGmCmAmCmGmAmUmGmGm	SEQ ID NO: 721	GAUCUCCAUGAGGCACGAUGG	SEQ ID NO: 261
ETXS951	UmsGmsCmCmUmUmCfAmUfCfCfAfCmAmAmGmGmAmUmUmUm	SEQ ID NO: 722	UGCCUUAUCCACAAGGAUUU	SEQ ID NO: 242
ETXS953	UmsGmsCmGmAmAmAfGmAfUfCfUfCmCmAmUmGmAmGmGmCm	SEQ ID NO: 723	UGCGAAAGAUCUCCAUGAGGC	SEQ ID NO: 243
ETXS955	GmsCmsUmGmGmUmGfGmUfCfCfUfCmAmUmGmGmAmGmAmAm	SEQ ID NO: 724	GCUGGUGGUCCUCAUGGAGAA	SEQ ID NO: 244
ETXS957	GmsCmsGmAmAmAmGfAmUfCfUfCfCmAmUmGmAmGmGmCmAm	SEQ ID NO: 725	GCGAAAGAUCUCCAUGAGGCA	SEQ ID NO: 245
ETXS959	GmsUmsAmUmGmAmGfAmUfGfCfAfUmGmAmGmCmUmGmCmUm	SEQ ID NO: 726	GUAUGAGAUGCAUGAGCUGCU	SEQ ID NO: 246

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS961	GmsUmsUmUmGmAmUfGmAfGfAfUfUmAmAmUmCmCmUmGmAm	SEQ ID NO: 727	GUUUGAUGAGAUUAAUC CUGA	SEQ ID NO: 247
ETXS963	UmsGmsAmGmAmUmUfAmAfUfCfCfUmGmAmAmAmCmCmAmAm	SEQ ID NO: 728	UGAGAUUAAUCCUGAAA CCAA	SEQ ID NO: 248
ETXS965	UmsGmsAmUmGmAmGfAmUfUfAfAfUmCmCmUmGmAmAmAmCm	SEQ ID NO: 729	UGAUGAGAUUAAUCCUG AAAC	SEQ ID NO: 249
ETXS967	AmUmsGmAmGmAmUfUmAfAfUfCfCmUmGmAmAmAmCmCmAm	SEQ ID NO: 730	AUGAGAUUAAUCCUGAA ACCA	SEQ ID NO: 250
ETXS969	GmsAmUmsGmAmGmAmUfUfAfAfUfCmCmUmGmAmAmAmCmCm	SEQ ID NO: 731	GAUGAGAUUAAUCCUGA AACC	SEQ ID NO: 251
ETXS971	CmsUmsGmUmUmUmGfAmUfGfAfGfAmUmUmAmAmUmCmCmUm	SEQ ID NO: 732	CUGUUUGAUGAGAUUAA UCCU	SEQ ID NO: 252
ETXS973	UmsUmsUmUmGmCmCfUmUfCfAfUfCmCmAmCmAmAmGmGmAm	SEQ ID NO: 733	UUUUGCCUUCAUCCACA AGGA	SEQ ID NO: 253
ETXS975	CmsGmsAmAmAmGmAfUmCfUfCfCfAmUmGmAmGmGmCmAmCm	SEQ ID NO: 734	CGAAAGAUCUCCAUGAG GCAC	SEQ ID NO: 254
ETXS977	UmsGmsCmUmGmGmUfGmGfUfCfCfUmCmAmUmGmGmAmGmAm	SEQ ID NO: 735	UGCUGGUGGUCCUCAUG GAGA	SEQ ID NO: 255
ETXS979	CmsCmsUmUmCmAmUfCmCfAfCfAfAmGmGmAmUmUmUmUmGm	SEQ ID NO: 736	CCUUCAUCCACAAGGAU UUUG	SEQ ID NO: 256
ETXS981	GmsAmAmAmGmAmUfCmUfCfCfAfUmGmAmGmGmCmAmCmGm	SEQ ID NO: 737	GAAAGAUCUCCAUGAGG CACG	SEQ ID NO: 257
ETXS983	UmsUmsCmAmUmCmCfAmCfAfAfGfCmAmUmUmUmUmGmAmUm	SEQ ID NO: 738	UUCAUCCACAAGGAUUU UGAU	SEQ ID NO: 258
ETXS985	UmsUmsUmGmAmUmGfAmGfAfUfUfAmAmUmCmCmUmGmAmAm	SEQ ID NO: 739	UUUGAUGAGAUUAAUCC UGAA	SEQ ID NO: 259
ETXS987	UmsUmsGmCmCmUmUfCmAfUfCfCfAmCmAmAmGmGmAmUmUm	SEQ ID NO: 740	UUGCCUUCAUCCACAAG GAUU	SEQ ID NO: 260
ETXS989	GmsAmUmsCmUmCmCfAmUfGfAfGfGmCmAmCmGmAmUmGmGm	SEQ ID NO: 741	GAUCUCCAUGAGGCACG AUGG	SEQ ID NO: 261
ETXS991	UmsGmsCmCmUmUmCfAmUfCfCfAfCmAmAmGmGmAmUmUmUm	SEQ ID NO: 742	UGCCUUCAUCCACAAGG AUUU	SEQ ID NO: 242
ETXS993	UmsGmsCmGmAmAmAfGmAfUfCfUfCmCmAmUmGmAmGmGmCm	SEQ ID NO: 743	UGCGAAAGAUCUCCAUG AGGC	SEQ ID NO: 243
ETXS995	GmsCmsUmGmGmUmGfGmUfCfCfUfCmAmUmGmGmAmGmAmAm	SEQ ID NO: 744	GCUGGUGGUCCUCAUGG AGAA	SEQ ID NO: 244
ETXS997	GmsCmsGmAmAmAmGfAmUfCfUfCfCmAmUmGmAmGmGmCmAm	SEQ ID NO: 745	GCGAAAGAUCUCCAUGA GGCA	SEQ ID NO: 245
ETXS999	GmsUmsAmUmGmAmGfAmUfGfCfAfUmGmAmGmCmUmGmCmUm	SEQ ID NO: 746	GUAUGAGAUCAUGAGC UGCU	SEQ ID NO: 246
ETXS1001	GmsUmsUmUmGmAmUfGmAfGfAfUfUmAmAmUmCmCmUmGmAm	SEQ ID NO: 747	GUUUGAUGAGAUUAAUC CUGA	SEQ ID NO: 247

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS1003	UmsGmsAmGmAmUmUfAmAfUfCfCfUmGmAmAmAmCmCmAmAm	SEQ ID NO: 748	UGAGAUUAAUCCUGAAA CCAA	SEQ ID NO: 248
ETXS1005	UmsGmsAmUmGmAmGfAmUfUfAfAfUmCmCmUmGmAmAmAmCm	SEQ ID NO: 749	UGAUGAGAUUAAUCCUG AAAC	SEQ ID NO: 249
ETXS1007	AmsUmsGmAmGmAmUfUmAfAfUfCfCmUmGmAmAmAmCmCmAm	SEQ ID NO: 750	AUGAGAUUAAUCCUGAA ACCA	SEQ ID NO: 250
ETXS1009	GmsAmsUmGmAmGmAmUfUmAfAfUfCmCmUmGmAmAmAmCmCm	SEQ ID NO: 751	GAUGAGAUUAAUCCUGA AACC	SEQ ID NO: 251
ETXS1011	CmsUmsGmUmUmUmGfAmUfGfAfGfAmUmUmAmAmUmCmCmUm	SEQ ID NO: 752	CUGUUUGAUGAGAUUAA UCCU	SEQ ID NO: 252
ETXS1013	UmsUmsUmUmGmCmCfUmUfCfAfUfCmCmAmCmAmAmGmGmAm	SEQ ID NO: 753	UUUUGCCUUCAUCCACA AGGA	SEQ ID NO: 253
ETXS1015	CmsGmsAmAmAmGmAfUmCfUfCfCfAmUmGmAmGmGmCmAmCm	SEQ ID NO: 754	CGAAAGAUCUCCAUGAG GCAC	SEQ ID NO: 254
ETXS1017	UmsGmsCmUmGmGmUfGmGfUfCfCfUmCmAmUmGmGmAmGmAm	SEQ ID NO: 755	UGCUGGUGGUCCUCAUG GAGA	SEQ ID NO: 255
ETXS1019	CmsCmsUmUmCmAmUfCmCfAfCfAfAmGmGmAmUmUmUmUmGm	SEQ ID NO: 756	CCUUCAUCCACAAGGAU UUUG	SEQ ID NO: 256
ETXS1021	GmsAmsAmAmGmAmUfCmUfCfCfAfUmGmAmGmGmCmAmCmGm	SEQ ID NO: 757	GAAAGAUCUCCAUGAGG CACG	SEQ ID NO: 257
ETXS1023	UmsUmsCmAmUmCmCfAmCfAfAfGfCmAmUmUmUmUmGmAmUm	SEQ ID NO: 758	UUCAUCCACAAGGAUUU UGAU	SEQ ID NO: 258
ETXS1025	UmsUmsUmGmAmUmGfAmGfAfUfUfAmAmUmCmCmUmCmAmAm	SEQ ID NO: 759	UUUGAUGAGAUUAAUCC UGAA	SEQ ID NO: 259
ETXS1027	UmsUmsGmCmCmUmUfCmAfUfCfCfAmCmAmAmGmGmAmUmUm	SEQ ID NO: 760	UUGCCUUCAUCCACAAG GAUU	SEQ ID NO: 260
ETXS1029	GmsAmsUmCmUmCmCfAmUfGfAfGfGmCmAmCmGmAmUmGmGm	SEQ ID NO: 761	GAUCUCCAUGAGGCACG AUGG	SEQ ID NO: 261
ETXS1031	iaiaGmsCmsCmUmUmCmAfUmCfCfAfCfAmAmGmGmAmUmUmUmUm	SEQ ID NO: 772	GCCUUCAUCCACAAGGA UUUU	SEQ ID NO: 264
ETXS1033	iaiaGmsCmsCmUmUmCmAmUmCfCfAfCmAmAmGmGmAmUmUmUmUm	SEQ ID NO: 773	GCCUUCAUCCACAAGGA UUUU	SEQ ID NO: 264
ETXS1037	iaiaUmsAmsCmCmAmAmGmGmAfAfAfUmGmCmCmAmCmCmAmUmGm	SEQ ID NO: 775	UACCAAGGAAAUGCCAC CAUG	SEQ ID NO: 265
ETXS1041	iaiaAmsAmsAmGmAmUmCmUmCfCfAfUmGmAmGmGmCmAmCmGmAm	SEQ ID NO: 777	AAAGAUCUCCAUGAGGC ACGA	SEQ ID NO: 268
ETXS1043	iaiaCmsUmsCmCmAmCmCfUmUfUfGfAfCmAmAmGmAmAmUmUmUm	SEQ ID NO: 778	CUCCACCUUUGACAAGA AUUU	SEQ ID NO: 285
ETXS1045	iaiaCmsUmsCmCmAmCmCmUmUfUfGfAmCmAmAmGmAmAmUmUmUm	SEQ ID NO: 779	CUCCACCUUUGACAAGA AUUU	SEQ ID NO: 285
ETXS1047	iaiaGmsGmsAmGmUmUmUfUmGfCfCfUfUfUmCmAmUmCmCmAmCmAm	SEQ ID NO: 780	GGAGUUUUUGCCUUCAUC CACA	SEQ ID NO: 322

ID de la cadena con sentido	Segunda cadena modificada (con sentido) 5'→3'	SEQ ID NO (SS - mod)	Secuencia de bases subyacente 5'→3'	SEQ ID NO (SS - no mod)
			(Mostrada como una secuencia de nucleósidos no modificados)	
ETXS1049	iaiaGmsGmsAmGmUmUmUmUmGfCfCfUmUmCmAmUmCmCmAmCmAm	SEQ ID NO: 781	GGAGUUUUUGCCUUCAUC CACA	SEQ ID NO: 322
ETXS2127	GmsCmsCmUmUmCmAfUmCfCfAfCmAmAmGmGmAmCmUmUmUm	SEQ ID NO: 798	GCCUUCAUCCACAAGGA UUUU	SEQ ID NO: 791
ETXS2143	CmsUmsCmCmAmCmCfUmUfUfGfAmCmAmAmGmAmAmGmUmUm	SEQ ID NO: 799	CUCCACCUUUGACAAGA AGUU	SEQ ID NO: 792
ETXS2151	GmsUmsAmGmCmUmUfUmGfCfCfUmUmCmAmUmCmCmAmCmAm	SEQ ID NO: 800	GUAGUUUUUGCCUUCAUC CACA	SEQ ID NO: 793
ETXS2397	iaiaUmsAmsCmCmAmAmGmGmAfAfAfUmGmCmCmAmCmCmAmUmGm	SEQ ID NO: 819	UACCAAGGAAAUGCCAC CAUG	SEQ ID NO: 265
ETXS2399	iaiaAmsAmsAmGmAmUmCmUmCfCfAfUmGmAmGmGmCmAmCmGmAm	SEQ ID NO: 820	AAAGAUCUCCAUGAGGC ACGA	SEQ ID NO: 268

Algunas de las secuencias de la segunda cadena modificada como se ilustra anteriormente en la Tabla 4 incluyen el resto preferido 5'iaia. Sin embargo, también debe entenderse que el alcance de estas secuencias de segunda cadena modificada incluye adicionalmente la segunda cadena modificada con Me/F en ausencia del resto 5'iaia.

La Tabla 5 identifica dúplex con las ID de dúplex que hacen referencia a las ID con sentido y antisentido modificadas de las Tablas 3 y 4 previas.

Tabla 5

ID del dúplex	ID de la primera cadena (antisentido)	ID de la segunda cadena (con sentido)
ETXM1184	ETXS1036	ETXS1035
ETXM1157	ETXS1040	ETXS1039
ETXM316	ETXS632	ETXS631
ETXM317	ETXS634	ETXS633
ETXM318	ETXS636	ETXS635
ETXM319	ETXS638	ETXS637
ETXM320	ETXS640	ETXS639
ETXM321	ETXS642	ETXS641
ETXM322	ETXS644	ETXS643
ETXM323	ETXS646	ETXS645
ETXM324	ETXS648	ETXS647
ETXM325	ETXS650	ETXS649
ETXM326	ETXS652	ETXS651
ETXM327	ETXS654	ETXS653
ETXM328	ETXS656	ETXS655
ETXM329	ETXS658	ETXS657
ETXM330	ETXS660	ETXS659
ETXM331	ETXS662	ETXS661

ID del dúplex	ID de la primera cadena (antisentido)	ID de la segunda cadena (con sentido)
ETXM332	ETXS664	ETXS663
ETXM333	ETXS666	ETXS665
ETXM334	ETXS668	ETXS667
ETXM335	ETXS670	ETXS669
ETXM336	ETXS672	ETXS671
ETXM337	ETXS674	ETXS673
ETXM338	ETXS676	ETXS675
ETXM339	ETXS678	ETXS677
ETXM340	ETXS680	ETXS679
ETXM341	ETXS682	ETXS681
ETXM342	ETXS684	ETXS683
ETXM343	ETXS686	ETXS685
ETXM344	ETXS688	ETXS687
ETXM345	ETXS690	ETXS689
ETXM346	ETXS692	ETXS691
ETXM347	ETXS694	ETXS693
ETXM348	ETXS696	ETXS695
ETXM349	ETXS698	ETXS697
ETXM350	ETXS700	ETXS699
ETXM351	ETXS702	ETXS701
ETXM352	ETXS704	ETXS703
ETXM353	ETXS706	ETXS705
ETXM354	ETXS708	ETXS707
ETXM355	ETXS710	ETXS709
ETXM356	ETXS712	ETXS711
ETXM357	ETXS714	ETXS713
ETXM358	ETXS716	ETXS715
ETXM359	ETXS718	ETXS717
ETXM360	ETXS720	ETXS719
ETXM361	ETXS722	ETXS721
ETXM362	ETXS724	ETXS723
ETXM363	ETXS726	ETXS725
ETXM364	ETXS728	ETXS727
ETXM365	ETXS730	ETXS729
ETXM366	ETXS732	ETXS731
ETXM367	ETXS734	ETXS733
ETXM368	ETXS736	ETXS735
ETXM369	ETXS738	ETXS737
ETXM370	ETXS740	ETXS739
ETXM371	ETXS742	ETXS741

ID del dúplex	ID de la primera cadena (antisentido)	ID de la segunda cadena (con sentido)
ETXM372	ETXS744	ETXS743
ETXM373	ETXS746	ETXS745
ETXM374	ETXS748	ETXS747
ETXM375	ETXS750	ETXS749
ETXM376	ETXS752	ETXS751
ETXM377	ETXS754	ETXS753
ETXM378	ETXS756	ETXS755
ETXM379	ETXS758	ETXS757
ETXM380	ETXS760	ETXS759
ETXM381	ETXS762	ETXS761
ETXM382	ETXS764	ETXS763
ETXM383	ETXS766	ETXS765
ETXM384	ETXS768	ETXS767
ETXM385	ETXS770	ETXS769
ETXM386	ETXS772	ETXS771
ETXM387	ETXS774	ETXS773
ETXM388	ETXS776	ETXS775
ETXM389	ETXS778	ETXS777
ETXM390	ETXS780	ETXS779
ETXM391	ETXS782	ETXS781
ETXM392	ETXS784	ETXS783
ETXM393	ETXS786	ETXS785
ETXM394	ETXS788	ETXS787
ETXM395	ETXS790	ETXS789
ETXM396	ETXS792	ETXS791
ETXM397	ETXS794	ETXS793
ETXM398	ETXS796	ETXS795
ETXM399	ETXS798	ETXS797
ETXM400	ETXS800	ETXS799
ETXM401	ETXS802	ETXS801
ETXM402	ETXS804	ETXS803
ETXM403	ETXS806	ETXS805
ETXM404	ETXS808	ETXS807
ETXM405	ETXS810	ETXS809
ETXM406	ETXS812	ETXS811
ETXM407	ETXS814	ETXS813
ETXM408	ETXS816	ETXS815
ETXM409	ETXS818	ETXS817
ETXM410	ETXS820	ETXS819
ETXM411	ETXS822	ETXS821

ID del dúplex	ID de la primera cadena (antisentido)	ID de la segunda cadena (con sentido)
ETXM412	ETXS824	ETXS823
ETXM413	ETXS826	ETXS825
ETXM414	ETXS828	ETXS827
ETXM415	ETXS830	ETXS829
ETXM416	ETXS832	ETXS831
ETXM417	ETXS834	ETXS833
ETXM418	ETXS836	ETXS835
ETXM419	ETXS838	ETXS837
ETXM420	ETXS840	ETXS839
ETXM421	ETXS842	ETXS841
ETXM422	ETXS844	ETXS843
ETXM423	ETXS846	ETXS845
ETXM424	ETXS848	ETXS847
ETXM425	ETXS850	ETXS849
ETXM426	ETXS852	ETXS851
ETXM427	ETXS854	ETXS853
ETXM428	ETXS856	ETXS855
ETXM429	ETXS858	ETXS857
ETXM430	ETXS860	ETXS859
ETXM431	ETXS862	ETXS861
ETXM432	ETXS864	ETXS863
ETXM433	ETXS866	ETXS865
ETXM434	ETXS868	ETXS867
ETXM435	ETXS870	ETXS869
ETXM436	ETXS872	ETXS871
ETXM437	ETXS874	ETXS873
ETXM438	ETXS876	ETXS875
ETXM439	ETXS878	ETXS877
ETXM440	ETXS880	ETXS879
ETXM441	ETXS882	ETXS881
ETXM442	ETXS884	ETXS883
ETXM443	ETXS886	ETXS885
ETXM444	ETXS888	ETXS887
ETXM445	ETXS890	ETXS889
ETXM446	ETXS892	ETXS891
ETXM447	ETXS894	ETXS893
ETXM448	ETXS896	ETXS895
ETXM449	ETXS898	ETXS897
ETXM450	ETXS900	ETXS899
ETXM451	ETXS902	ETXS901

ID del dúplex	ID de la primera cadena (antisentido)	ID de la segunda cadena (con sentido)
ETXM452	ETXS904	ETXS903
ETXM453	ETXS906	ETXS905
ETXM454	ETXS908	ETXS907
ETXM455	ETXS910	ETXS909
ETXM456	ETXS912	ETXS911
ETXM457	ETXS914	ETXS913
ETXM458	ETXS916	ETXS915
ETXM459	ETXS918	ETXS917
ETXM460	ETXS920	ETXS919
ETXM461	ETXS922	ETXS921
ETXM462	ETXS924	ETXS923
ETXM463	ETXS926	ETXS925
ETXM464	ETXS928	ETXS927
ETXM465	ETXS930	ETXS929
ETXM466	ETXS932	ETXS931
ETXM467	ETXS934	ETXS933
ETXM468	ETXS936	ETXS935
ETXM469	ETXS938	ETXS937
ETXM470	ETXS940	ETXS939
ETXM471	ETXS942	ETXS941
ETXM472	ETXS944	ETXS943
ETXM473	ETXS946	ETXS945
ETXM474	ETXS948	ETXS947
ETXM475	ETXS950	ETXS949
ETXM476	ETXS952	ETXS951
ETXM477	ETXS954	ETXS953
ETXM478	ETXS956	ETXS955
ETXM479	ETXS958	ETXS957
ETXM480	ETXS960	ETXS959
ETXM481	ETXS962	ETXS961
ETXM482	ETXS964	ETXS963
ETXM483	ETXS966	ETXS965
ETXM484	ETXS968	ETXS967
ETXM485	ETXS970	ETXS969
ETXM486	ETXS972	ETXS971
ETXM487	ETXS974	ETXS973
ETXM488	ETXS976	ETXS975
ETXM489	ETXS978	ETXS977
ETXM490	ETXS980	ETXS979
ETXM491	ETXS982	ETXS981

ES 3 024 951 T3

ID del dúplex	ID de la primera cadena (antisentido)	ID de la segunda cadena (con sentido)
ETXM492	ETXS984	ETXS983
ETXM493	ETXS986	ETXS985
ETXM494	ETXS988	ETXS987
ETXM495	ETXS990	ETXS989
ETXM496	ETXS992	ETXS991
ETXM497	ETXS994	ETXS993
ETXM498	ETXS996	ETXS995
ETXM499	ETXS998	ETXS997
ETXM500	ETXS 1000	ETXS999
ETXM501	ETXS 1002	ETXS1001
ETXM502	ETXS 1004	ETXS1003
ETXM503	ETXS 1006	ETXS 1005
ETXM504	ETXS1008	ETXS 1007
ETXM505	ETXS1010	ETXS 1009
ETXM506	ETXS1012	ETXS1011
ETXM507	ETXS1014	ETXS1013
ETXM508	ETXS1016	ETXS1015
ETXM509	ETXS1018	ETXS1017
ETXM510	ETXS 1020	ETXS1019
ETXM511	ETXS 1022	ETXS 1021
ETXM512	ETXS 1024	ETXS1023
ETXM513	ETXS 1026	ETXS1025
ETXM514	ETXS1028	ETXS 1027
ETXM515	ETXS1030	ETXS 1029
ETXM1064	ETXS2128	ETXS2127
ETXM1072	ETXS2144	ETXS2143
ETXM1076	ETXS2152	ETXS2151
ETXM1180	ETXS1032	ETXS1031
ETXM1181	ETXS1034	ETXS1033
ETXM1185	ETXS1038	ETXS1037
ETXM1162	ETXS 1042	ETXS1041
ETXM1188	ETXS 1044	ETXS 1043
ETXM1189	ETXS 1046	ETXS 1045
ETXM1192	ETXS1048	ETXS1047
ETXM1193	ETXS 1050	ETXS1049
ETXM1194	ETXS1051	ETXS1033
ETXM1195	ETXS1052	ETXS1037
ETXM1196	ETXS1053	ETXS1041
ETXM1197	ETXS1054	ETXS1045
ETXM1198	ETXS1055	ETXS1049

ID del dúplex	ID de la primera cadena (antisentido)	ID de la segunda cadena (con sentido)
ETXM1199	ETXS2398	ETXS2397
ETXM1200	ETXS2400	ETXS2397
ETXM1201	ETXS2402	ETXS2397
ETXM1202	ETXS2404	ETXS2397
ETXM1203	ETXS2406	ETXS2397
ETXM1204	ETXS2408	ETXS2397
ETXM1205	ETXS2410	ETXS2397
ETXM1206	ETXS2412	ETXS2397
ETXM1207	ETXS2414	ETXS2397
ETXM1208	ETXS2416	ETXS2399
ETXM1209	ETXS2418	ETXS2399
ETXM1210	ETXS2420	ETXS2399
ETXM1211	ETXS2422	ETXS2399
ETXM1212	ETXS2424	ETXS2399
ETXM1213	ETXS2426	ETXS2399
ETXM1214	ETXS2428	ETXS2399
ETXM1215	ETXS2430	ETXS2399
ETXM1216	ETXS2432	ETXS2399

Para los dúplex de la Tabla 5:

5 ETXM316 - ETXM415, ETXM436 - ETXM515 y ETXM1180 - ETXM1216 tienen una estructura dúplex según la Figura 8a con una protuberancia de 2 nucleósidos en el extremo 3' de la antisentido;

ETXM416 - ETXM435: tienen una estructura de dúplex según la Figura 8b, a saber, una construcción de extremos romos de 19mer.

10 Definiciones como se proporcionan en las Tablas anteriores:

A - adenosina

C - citidina

15

G - guanosina

T - timidina

20

m - 2'-O-metilo

f - 2'fluro

s - enlace fosforotioato

25

o - nucleósido desestabilizado térmicamente

ia - nucleósido abásico invertido

30

Ejemplo 9: Cribado de inhibición para la expresión de ZPI en células Huh7 humanas

Las células Huh7 (línea celular derivada de hepatocitos humanos, obtenida del banco de células JCRB) se mantuvieron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con FBS al 10 % a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %. Las células se transfectaron con dúplex de ARNsi dirigidos a ARNm de ZPI o un ARNsi de control negativo (control de ARNsi; cadena con sentido 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3' (SEQ ID NO: 794), cadena antisentido 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3' (SEQ ID NO: 790)) a una concentración

35

de dúplex final de 5 nM y 0,1 nM. La transfección se llevó a cabo añadiendo 9,7 µl de Opti-MEM (ThermoFisher) más 0,3 µl de Lipofectamina RNAiMAX (ThermoFisher) a 10 µl de cada dúplex de ARNsi. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de añadirse a 100 µl de medio de crecimiento completo que contenía 20.000 células Huh7. Las células se incubaron durante 24 horas a 37°C/CO₂ al 5 % antes de la purificación del ARN total usando un kit RNeasy 96 (Qiagen). Cada dúplex se ensayó por transfección en pocillos duplicados en dos experimentos independientes.

La síntesis de ADNc se realizó usando el kit FastQuant RT (con gADNasa) (Tiangen). Se realizó PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) en un ABI Prism 7900HT o ABI QuantStudio 7 con cebadores específicos para ZPI humano (Hs01547819_m1) y GAPDH humana (Hs02786624_gl) usando el kit maestro de sonda universal FastStart (Roche).

La qPCR se realizó por duplicado en ADNc derivado de cada pocillo y se calculó la Ct media. La expresión relativa de ZPI se calculó a partir de los valores medios de Ct usando el método comparativo de Ct ($\Delta\Delta Ct$), normalizado para GAPDH y con respecto a células no tratadas. Basándose en los resultados del cribado primario, se seleccionaron dúplex de ARNsi que presentaban buena actividad para el seguimiento de la respuesta a la dosis. Los resultados se muestran en la Figura 9. Las secuencias de las moléculas de ARNi se representan en la Tabla 5.

Ejemplo 10: Respuesta a la dosis para la inhibición de la expresión de ZPI en células Huh7 humanas

Las células Huh7 (línea celular derivada de hepatocitos humanos, obtenida del banco de células JCRB) se mantuvieron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con FBS al 10 % a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %. Las células se transfectaron con dúplex de ARNsi dirigidos a ARNm de ZPI o un ARNsi de control negativo (control de ARNsi; cadena con sentido 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3' (SEQ ID NO: 794), cadena antisentido 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3' (SEQ ID NO: 790)) usando diluciones en serie de 10x3 veces a lo largo de un rango de concentración de dúplex final de 20 nM a 1 pM. La transfección se llevó a cabo añadiendo 9,7 µl de Opti-MEM (ThermoFisher) más 0,3 µl de Lipofectamina RNAiMAX (ThermoFisher) a 10 µl de cada dúplex de ARNsi. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de añadirse a 100 µl de medio de crecimiento completo que contenía 20.000 células Huh7. Las células se incubaron durante 24 horas a 37°C/CO₂ al 5 % antes de la purificación del ARN total usando un kit RNeasy 96 (Qiagen). Cada dúplex se ensayó por transfección en pocillos duplicados en un único experimento.

La síntesis de ADNc se realizó usando el kit FastQuant RT (con gADNasa) (Tiangen). Se realizó PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) en un ABI Prism 7900HT o ABI QuantStudio 7 con cebadores específicos para ZPI humano (Hs01547819_m1) y GAPDH humana (Hs02786624_gl) usando el kit maestro de sonda universal FastStart (Roche).

La qPCR se realizó por duplicado en ADNc derivado de cada pocillo y se calculó la Ct media. La expresión relativa de ZPI se calculó a partir de los valores medios de Ct usando el método comparativo de Ct ($\Delta\Delta Ct$), normalizado para GAPDH y con respecto a células no tratadas. El porcentaje máximo de inhibición de la expresión de ZPI y los valores de CI50 se calcularon usando un modelo de cuatro parámetros (pendiente variable) usando GraphPad Prism 9. Los resultados se muestran en la Figura 9. Las secuencias de las moléculas de ARNi se representan en las Tablas relevantes en la presente memoria.

Tabla 6 - Expresión relativa de ARNm

ID del dúplex	ID de la cadena antisentido	SEQ ID NO (AS - mod)	ID de la cadena con sentido	SEQ ID NO (SS - mod)	Expresión relativa media/0,1 nM	Expresión relativa media/5 nM
ETXM316	ETXS632	SEQ ID NO: 362	ETXS631	SEQ ID NO: 562	0,72	0,38
ETXM317	ETXS634	SEQ ID NO: 363	ETXS633	SEQ ID NO: 563	1,01	0,54
ETXM318	ETXS636	SEQ ID NO: 364	ETXS635	SEQ ID NO: 564	0,97	0,56
ETXM319	ETXS638	SEQ ID NO: 365	ETXS637	SEQ ID NO: 565	0,91	0,43
ETXM320	ETXS640	SEQ ID NO: 366	ETXS639	SEQ ID NO: 566	0,84	0,34
ETXM321	ETXS642	SEQ ID NO: 367	ETXS641	SEQ ID NO: 567	0,58	0,27
ETXM322	ETXS644	SEQ ID NO: 368	ETXS643	SEQ ID NO: 568	0,5	0,27
ETXM323	ETXS646	SEQ ID NO: 369	ETXS645	SEQ ID NO: 569	0,69	0,3
ETXM324	ETXS648	SEQ ID NO: 370	ETXS647	SEQ ID NO: 570	0,87	0,46

ES 3 024 951 T3

ID del dúplex	ID de la cadena antisentido	SEQ ID NO (AS - mod)	ID de la cadena con sentido	SEQ ID NO (SS - mod)	Expresión relativa media/0,1 nM	Expresión relativa media/5 nM
ETXM325	ETXS650	SEQ ID NO: 371	ETXS649	SEQ ID NO: 571	0,74	0,31
ETXM326	ETXS652	SEQ ID NO: 372	ETXS651	SEQ ID NO: 572	0,99	0,33
ETXM327	ETXS654	SEQ ID NO: 373	ETXS653	SEQ ID NO: 573	0,79	0,37
ETXM328	ETXS656	SEQ ID NO: 374	ETXS655	SEQ ID NO: 574	0,9	0,49
ETXM329	ETXS658	SEQ ID NO: 375	ETXS657	SEQ ID NO: 575	1,11	0,81
ETXM330	ETXS660	SEQ ID NO: 376	ETXS659	SEQ ID NO: 576	1	0,83
ETXM331	ETXS662	SEQ ID NO: 377	ETXS661	SEQ ID NO: 577	1,04	0,84
ETXM332	ETXS664	SEQ ID NO: 378	ETXS663	SEQ ID NO: 578	0,42	0,22
ETXM333	ETXS666	SEQ ID NO: 379	ETXS665	SEQ ID NO: 579	0,58	0,28
ETXM334	ETXS668	SEQ ID NO: 380	ETXS667	SEQ ID NO: 580	0,91	0,57
ETXM335	ETXS670	SEQ ID NO: 381	ETXS669	SEQ ID NO: 581	1,04	0,74
ETXM336	ETXS672	SEQ ID NO: 382	ETXS671	SEQ ID NO: 582	1,07	0,85
ETXM337	ETXS674	SEQ ID NO: 383	ETXS673	SEQ ID NO: 583	0,84	0,51
ETXM338	ETXS676	SEQ ID NO: 384	ETXS675	SEQ ID NO: 584	0,38	0,23
ETXM339	ETXS678	SEQ ID NO: 385	ETXS677	SEQ ID NO: 585	0,85	0,4
ETXM340	ETXS680	SEQ ID NO: 386	ETXS679	SEQ ID NO: 586	0,75	0,36
ETXM341	ETXS682	SEQ ID NO: 387	ETXS681	SEQ ID NO: 587	0,55	0,22
ETXM342	ETXS684	SEQ ID NO: 388	ETXS683	SEQ ID NO: 588	0,55	0,42
ETXM343	ETXS686	SEQ ID NO: 389	ETXS685	SEQ ID NO: 589	0,45	0,29
ETXM344	ETXS688	SEQ ID NO: 390	ETXS687	SEQ ID NO: 590	0,98	1,01
ETXM345	ETXS690	SEQ ID NO: 391	ETXS689	SEQ ID NO: 591	0,78	0,57
ETXM346	ETXS692	SEQ ID NO: 392	ETXS691	SEQ ID NO: 592	1,09	1,12
ETXM347	ETXS694	SEQ ID NO: 393	ETXS693	SEQ ID NO: 593	0,93	0,45
ETXM348	ETXS696	SEQ ID NO: 394	ETXS695	SEQ ID NO: 594	0,91	0,65
ETXM349	ETXS698	SEQ ID NO: 395	ETXS697	SEQ ID NO: 595	0,88	0,49
ETXM350	ETXS700	SEQ ID NO: 396	ETXS699	SEQ ID NO: 596	0,87	0,75
ETXM351	ETXS702	SEQ ID NO: 397	ETXS701	SEQ ID NO: 597	0,96	0,96
ETXM352	ETXS704	SEQ ID NO: 398	ETXS703	SEQ ID NO: 598	0,95	1,04
ETXM353	ETXS706	SEQ ID NO: 399	ETXS705	SEQ ID NO: 599	0,71	0,5
ETXM354	ETXS708	SEQ ID NO: 400	ETXS707	SEQ ID NO: 600	0,7	0,43
ETXM355	ETXS710	SEQ ID NO: 401	ETXS709	SEQ ID NO: 601	0,69	0,34
ETXM356	ETXS712	SEQ ID NO: 402	ETXS711	SEQ ID NO: 602	0,92	0,71
ETXM357	ETXS714	SEQ ID NO: 403	ETXS713	SEQ ID NO: 603	0,88	0,49
ETXM358	ETXS716	SEQ ID NO: 404	ETXS715	SEQ ID NO: 604	0,98	0,5
ETXM359	ETXS718	SEQ ID NO: 405	ETXS717	SEQ ID NO: 605	0,66	0,33
ETXM360	ETXS720	SEQ ID NO: 406	ETXS719	SEQ ID NO: 606	0,75	0,54
ETXM361	ETXS722	SEQ ID NO: 407	ETXS721	SEQ ID NO: 607	0,68	0,48
ETXM362	ETXS724	SEQ ID NO: 408	ETXS723	SEQ ID NO: 608	0,95	0,9

ES 3 024 951 T3

ID del dúplex	ID de la cadena antisentido	SEQ ID NO (AS - mod)	ID de la cadena con sentido	SEQ ID NO (SS - mod)	Expresión relativa media/0,1 nM	Expresión relativa media/5 nM
ETXM363	ETXS726	SEQ ID NO: 409	ETXS725	SEQ ID NO: 609	0,96	0,75
ETXM364	ETXS728	SEQ ID NO: 410	ETXS727	SEQ ID NO: 610	0,88	0,44
ETXM365	ETXS730	SEQ ID NO: 411	ETXS729	SEQ ID NO: 611	0,82	0,49
ETXM366	ETXS732	SEQ ID NO: 412	ETXS731	SEQ ID NO: 612	0,95	0,6
ETXM367	ETXS734	SEQ ID NO: 413	ETXS733	SEQ ID NO: 613	0,92	0,51
ETXM368	ETXS736	SEQ ID NO: 414	ETXS735	SEQ ID NO: 614	1,02	0,84
ETXM369	ETXS738	SEQ ID NO: 415	ETXS737	SEQ ID NO: 615	1,02	1
ETXM370	ETXS740	SEQ ID NO: 416	ETXS739	SEQ ID NO: 616	1,37	0,96
ETXM371	ETXS742	SEQ ID NO: 417	ETXS741	SEQ ID NO: 617	0,94	0,65
ETXM372	ETXS744	SEQ ID NO: 418	ETXS743	SEQ ID NO: 618	0,95	0,67
ETXM373	ETXS746	SEQ ID NO: 419	ETXS745	SEQ ID NO: 619	1,05	0,96
ETXM374	ETXS748	SEQ ID NO: 420	ETXS747	SEQ ID NO: 620	0,97	0,91
ETXM375	ETXS750	SEQ ID NO: 421	ETXS749	SEQ ID NO: 621	0,81	0,39
ETXM376	ETXS752	SEQ ID NO: 422	ETXS751	SEQ ID NO: 622	0,97	0,76
ETXM377	ETXS754	SEQ ID NO: 423	ETXS753	SEQ ID NO: 623	0,93	0,59
ETXM378	ETXS756	SEQ ID NO: 424	ETXS755	SEQ ID NO: 624	0,93	0,52
ETXM379	ETXS758	SEQ ID NO: 425	ETXS757	SEQ ID NO: 625	0,96	0,81
ETXM380	ETXS760	SEQ ID NO: 426	ETXS759	SEQ ID NO: 626	0,61	0,31
ETXM381	ETXS762	SEQ ID NO: 427	ETXS761	SEQ ID NO: 627	0,84	0,82
ETXM382	ETXS764	SEQ ID NO: 428	ETXS763	SEQ ID NO: 628	0,8	0,47
ETXM383	ETXS766	SEQ ID NO: 429	ETXS765	SEQ ID NO: 629	0,82	0,37
ETXM384	ETXS768	SEQ ID NO: 430	ETXS767	SEQ ID NO: 630	0,67	0,38
ETXM385	ETXS770	SEQ ID NO: 431	ETXS769	SEQ ID NO: 631	0,9	0,87
ETXM386	ETXS772	SEQ ID NO: 432	ETXS771	SEQ ID NO: 632	0,91	0,73
ETXM387	ETXS774	SEQ ID NO: 433	ETXS773	SEQ ID NO: 633	0,86	0,97
ETXM388	ETXS776	SEQ ID NO: 434	ETXS775	SEQ ID NO: 634	0,96	0,7
ETXM389	ETXS778	SEQ ID NO: 435	ETXS777	SEQ ID NO: 635	0,95	0,68
ETXM390	ETXS780	SEQ ID NO: 436	ETXS779	SEQ ID NO: 636	0,87	0,51
ETXM391	ETXS782	SEQ ID NO: 437	ETXS781	SEQ ID NO: 637	0,76	0,35
ETXM392	ETXS784	SEQ ID NO: 438	ETXS783	SEQ ID NO: 638	0,99	0,76
ETXM393	ETXS786	SEQ ID NO: 439	ETXS785	SEQ ID NO: 639	0,94	1,06
ETXM394	ETXS788	SEQ ID NO: 440	ETXS787	SEQ ID NO: 640	0,85	0,8
ETXM395	ETXS790	SEQ ID NO: 441	ETXS789	SEQ ID NO: 641	0,95	0,53
ETXM396	ETXS792	SEQ ID NO: 442	ETXS791	SEQ ID NO: 642	0,62	0,27
ETXM397	ETXS794	SEQ ID NO: 443	ETXS793	SEQ ID NO: 643	0,96	0,64
ETXM398	ETXS796	SEQ ID NO: 444	ETXS795	SEQ ID NO: 644	0,93	0,55
ETXM399	ETXS798	SEQ ID NO: 445	ETXS797	SEQ ID NO: 645	0,94	0,66
ETXM400	ETXS800	SEQ ID NO: 446	ETXS799	SEQ ID NO: 646	0,77	0,57

ES 3 024 951 T3

ID del dúplex	ID de la cadena antisentido	SEQ ID NO (AS - mod)	ID de la cadena con sentido	SEQ ID NO (SS - mod)	Expresión relativa media/0,1 nM	Expresión relativa media/5 nM
ETXM401	ETXS802	SEQ ID NO: 447	ETXS801	SEQ ID NO: 647	0,69	0,25
ETXM402	ETXS804	SEQ ID NO: 448	ETXS803	SEQ ID NO: 648	1,05	0,95
ETXM403	ETXS806	SEQ ID NO: 449	ETXS805	SEQ ID NO: 649	0,86	0,5
ETXM404	ETXS808	SEQ ID NO: 450	ETXS807	SEQ ID NO: 650	0,83	0,35
ETXM405	ETXS810	SEQ ID NO: 451	ETXS809	SEQ ID NO: 651	0,97	0,73
ETXM406	ETXS812	SEQ ID NO: 452	ETXS811	SEQ ID NO: 652	0,84	0,33
ETXM407	ETXS814	SEQ ID NO: 453	ETXS813	SEQ ID NO: 653	0,77	0,51
ETXM408	ETXS816	SEQ ID NO: 454	ETXS815	SEQ ID NO: 654	0,89	0,51
ETXM409	ETXS818	SEQ ID NO: 455	ETXS817	SEQ ID NO: 655	1	0,59
ETXM410	ETXS820	SEQ ID NO: 456	ETXS819	SEQ ID NO: 656	0,98	0,71
ETXM411	ETXS822	SEQ ID NO: 457	ETXS821	SEQ ID NO: 657	0,77	0,36
ETXM412	ETXS824	SEQ ID NO: 458	ETXS823	SEQ ID NO: 658	0,97	0,42
ETXM413	ETXS826	SEQ ID NO: 459	ETXS825	SEQ ID NO: 659	1	0,77
ETXM414	ETXS828	SEQ ID NO: 460	ETXS827	SEQ ID NO: 660	0,98	0,79
ETXM415	ETXS830	SEQ ID NO: 461	ETXS829	SEQ ID NO: 661	0,96	0,62
ETXM416	ETXS832	SEQ ID NO: 462	ETXS831	SEQ ID NO: 662	0,96	0,52
ETXM417	ETXS834	SEQ ID NO: 463	ETXS833	SEQ ID NO: 663	1,03	0,75
ETXM418	ETXS836	SEQ ID NO: 464	ETXS835	SEQ ID NO: 664	1,11	0,74
ETXM419	ETXS838	SEQ ID NO: 465	ETXS837	SEQ ID NO: 665	0,99	0,6
ETXM420	ETXS840	SEQ ID NO: 466	ETXS839	SEQ ID NO: 666	0,91	0,54
ETXM421	ETXS842	SEQ ID NO: 467	ETXS841	SEQ ID NO: 667	0,8	0,27
ETXM422	ETXS844	SEQ ID NO: 468	ETXS843	SEQ ID NO: 668	0,82	0,33
ETXM423	ETXS846	SEQ ID NO: 469	ETXS845	SEQ ID NO: 669	0,91	0,36
ETXM424	ETXS848	SEQ ID NO: 470	ETXS847	SEQ ID NO: 670	0,98	0,62
ETXM425	ETXS850	SEQ ID NO: 471	ETXS849	SEQ ID NO: 671	0,81	0,32
ETXM426	ETXS852	SEQ ID NO: 472	ETXS851	SEQ ID NO: 672	0,91	0,49
ETXM427	ETXS854	SEQ ID NO: 473	ETXS853	SEQ ID NO: 673	1,02	0,46
ETXM428	ETXS856	SEQ ID NO: 474	ETXS855	SEQ ID NO: 674	1,09	0,94
ETXM429	ETXS858	SEQ ID NO: 475	ETXS857	SEQ ID NO: 675	1,14	0,7
ETXM430	ETXS860	SEQ ID NO: 476	ETXS859	SEQ ID NO: 676	0,92	0,71
ETXM431	ETXS862	SEQ ID NO: 477	ETXS861	SEQ ID NO: 677	1,18	0,9
ETXM432	ETXS864	SEQ ID NO: 478	ETXS863	SEQ ID NO: 678	0,7	0,26
ETXM433	ETXS866	SEQ ID NO: 479	ETXS865	SEQ ID NO: 679	1,07	0,31
ETXM434	ETXS868	SEQ ID NO: 480	ETXS867	SEQ ID NO: 680	1,11	0,63
ETXM435	ETXS870	SEQ ID NO: 481	ETXS869	SEQ ID NO: 681	1	0,8
ETXM436	ETXS872	SEQ ID NO: 482	ETXS871	SEQ ID NO: 682	0,72	0,44
ETXM437	ETXS874	SEQ ID NO: 483	ETXS873	SEQ ID NO: 683	0,98	0,47
ETXM438	ETXS876	SEQ ID NO: 484	ETXS875	SEQ ID NO: 684	1,05	0,75

ES 3 024 951 T3

ID del dúplex	ID de la cadena antisentido	SEQ ID NO (AS - mod)	ID de la cadena con sentido	SEQ ID NO (SS - mod)	Expresión relativa media/0,1 nM	Expresión relativa media/5 nM
ETXM439	ETXS878	SEQ ID NO: 485	ETXS877	SEQ ID NO: 685	0,91	0,49
ETXM440	ETXS880	SEQ ID NO: 486	ETXS879	SEQ ID NO: 686	0,91	0,46
ETXM441	ETXS882	SEQ ID NO: 487	ETXS881	SEQ ID NO: 687	0,74	0,36
ETXM442	ETXS884	SEQ ID NO: 488	ETXS883	SEQ ID NO: 688	0,62	0,36
ETXM443	ETXS886	SEQ ID NO: 489	ETXS885	SEQ ID NO: 689	0,73	0,3
ETXM444	ETXS888	SEQ ID NO: 490	ETXS887	SEQ ID NO: 690	1	0,59
ETXM445	ETXS890	SEQ ID NO: 491	ETXS889	SEQ ID NO: 691	0,71	0,37
ETXM446	ETXS892	SEQ ID NO: 492	ETXS891	SEQ ID NO: 692	0,73	0,27
ETXM447	ETXS894	SEQ ID NO: 493	ETXS893	SEQ ID NO: 693	0,81	0,39
ETXM448	ETXS896	SEQ ID NO: 494	ETXS895	SEQ ID NO: 694	0,81	0,61
ETXM449	ETXS898	SEQ ID NO: 495	ETXS897	SEQ ID NO: 695	0,91	0,8
ETXM450	ETXS900	SEQ ID NO: 496	ETXS899	SEQ ID NO: 696	0,97	0,52
ETXM451	ETXS902	SEQ ID NO: 497	ETXS901	SEQ ID NO: 697	0,96	0,61
ETXM452	ETXS904	SEQ ID NO: 498	ETXS903	SEQ ID NO: 698	0,4	0,24
ETXM453	ETXS906	SEQ ID NO: 499	ETXS905	SEQ ID NO: 699	0,62	0,3
ETXM454	ETXS908	SEQ ID NO: 500	ETXS907	SEQ ID NO: 700	0,81	0,46
ETXM455	ETXS910	SEQ ID NO: 501	ETXS909	SEQ ID NO: 701	0,94	0,68
ETXM456	ETXS912	SEQ ID NO: 502	ETXS911	SEQ ID NO: 702	0,75	0,36
ETXM457	ETXS914	SEQ ID NO: 503	ETXS913	SEQ ID NO: 703	0,98	0,52
ETXM458	ETXS916	SEQ ID NO: 504	ETXS915	SEQ ID NO: 704	1	0,61
ETXM459	ETXS918	SEQ ID NO: 505	ETXS917	SEQ ID NO: 705	0,92	0,44
ETXM460	ETXS920	SEQ ID NO: 506	ETXS919	SEQ ID NO: 706	0,86	0,4
ETXM461	ETXS922	SEQ ID NO: 507	ETXS921	SEQ ID NO: 707	0,84	0,27
ETXM462	ETXS924	SEQ ID NO: 508	ETXS923	SEQ ID NO: 708	0,72	0,33
ETXM463	ETXS926	SEQ ID NO: 509	ETXS925	SEQ ID NO: 709	0,76	0,35
ETXM464	ETXS928	SEQ ID NO: 510	ETXS927	SEQ ID NO: 710	0,95	0,55
ETXM465	ETXS930	SEQ ID NO: 511	ETXS929	SEQ ID NO: 711	0,77	0,36
ETXM466	ETXS932	SEQ ID NO: 512	ETXS931	SEQ ID NO: 712	0,84	0,33
ETXM467	ETXS934	SEQ ID NO: 513	ETXS933	SEQ ID NO: 713	0,91	0,39
ETXM468	ETXS936	SEQ ID NO: 514	ETXS935	SEQ ID NO: 714	1,14	0,8
ETXM469	ETXS938	SEQ ID NO: 515	ETXS937	SEQ ID NO: 715	1,17	0,67
ETXM470	ETXS940	SEQ ID NO: 516	ETXS939	SEQ ID NO: 716	1,12	0,79
ETXM471	ETXS942	SEQ ID NO: 517	ETXS941	SEQ ID NO: 717	1,16	0,86
ETXM472	ETXS944	SEQ ID NO: 518	ETXS943	SEQ ID NO: 718	0,49	0,25
ETXM473	ETXS946	SEQ ID NO: 519	ETXS945	SEQ ID NO: 719	0,91	0,34
ETXM474	ETXS948	SEQ ID NO: 520	ETXS947	SEQ ID NO: 720	1,12	0,68
ETXM475	ETXS950	SEQ ID NO: 521	ETXS949	SEQ ID NO: 721	1,25	0,84
ETXM476	ETXS952	SEQ ID NO: 522	ETXS951	SEQ ID NO: 722	0,87	0,42

ES 3 024 951 T3

ID del dúplex	ID de la cadena antisentido	SEQ ID NO (AS - mod)	ID de la cadena con sentido	SEQ ID NO (SS - mod)	Expresión relativa media/0,1 nM	Expresión relativa media/5 nM
ETXM477	ETXS954	SEQ ID NO: 523	ETXS953	SEQ ID NO: 723	1,12	0,52
ETXM478	ETXS956	SEQ ID NO: 524	ETXS955	SEQ ID NO: 724	1,03	0,62
ETXM479	ETXS958	SEQ ID NO: 525	ETXS957	SEQ ID NO: 725	1,13	0,51
ETXM480	ETXS960	SEQ ID NO: 526	ETXS959	SEQ ID NO: 726	0,93	0,56
ETXM481	ETXS962	SEQ ID NO: 527	ETXS961	SEQ ID NO: 727	0,89	0,36
ETXM482	ETXS964	SEQ ID NO: 528	ETXS963	SEQ ID NO: 728	0,68	0,46
ETXM483	ETXS966	SEQ ID NO: 529	ETXS965	SEQ ID NO: 729	0,82	0,5
ETXM484	ETXS968	SEQ ID NO: 530	ETXS967	SEQ ID NO: 730	1,06	0,74
ETXM485	ETXS970	SEQ ID NO: 531	ETXS969	SEQ ID NO: 731	0,91	0,41
ETXM486	ETXS972	SEQ ID NO: 532	ETXS971	SEQ ID NO: 732	0,68	0,23
ETXM487	ETXS974	SEQ ID NO: 533	ETXS973	SEQ ID NO: 733	0,8	0,31
ETXM488	ETXS976	SEQ ID NO: 534	ETXS975	SEQ ID NO: 734	0,89	0,64
ETXM489	ETXS978	SEQ ID NO: 535	ETXS977	SEQ ID NO: 735	0,89	0,67
ETXM490	ETXS980	SEQ ID NO: 536	ETXS979	SEQ ID NO: 736	0,91	0,56
ETXM491	ETXS982	SEQ ID NO: 537	ETXS981	SEQ ID NO: 737	1,06	0,75
ETXM492	ETXS984	SEQ ID NO: 538	ETXS983	SEQ ID NO: 738	0,43	0,22
ETXM493	ETXS986	SEQ ID NO: 539	ETXS985	SEQ ID NO: 739	0,59	0,33
ETXM494	ETXS988	SEQ ID NO: 540	ETXS987	SEQ ID NO: 740	0,93	0,59
ETXM495	ETXS990	SEQ ID NO: 541	ETXS989	SEQ ID NO: 741	1,08	0,74
ETXM496	ETXS992	SEQ ID NO: 542	ETXS991	SEQ ID NO: 742	0,73	0,42
ETXM497	ETXS994	SEQ ID NO: 543	ETXS993	SEQ ID NO: 743	1,01	0,59
ETXM498	ETXS996	SEQ ID NO: 544	ETXS995	SEQ ID NO: 744	0,95	0,59
ETXM499	ETXS998	SEQ ID NO: 545	ETXS997	SEQ ID NO: 745	1,08	0,53
ETXM500	ETXS 1000	SEQ ID NO: 546	ETXS999	SEQ ID NO: 746	0,87	0,46
ETXM501	ETXS1002	SEQ ID NO: 547	ETXS1001	SEQ ID NO: 747	0,6	0,27
ETXM502	ETXS 1004	SEQ ID NO: 548	ETXS1003	SEQ ID NO: 748	0,6	0,28
ETXM503	ETXS 1006	SEQ ID NO: 549	ETXS1005	SEQ ID NO: 749	0,73	0,36
ETXM504	ETXS1008	SEQ ID NO: 550	ETXS1007	SEQ ID NO: 750	0,9	0,68
ETXM505	ETXS1010	SEQ ID NO: 551	ETXS1009	SEQ ID NO: 751	0,72	0,36
ETXM506	ETXS1012	SEQ ID NO: 552	ETXS1011	SEQ ID NO: 752	0,62	0,25
ETXM507	ETXS1014	SEQ ID NO: 553	ETXS1013	SEQ ID NO: 753	1,21	0,33
ETXM508	ETXS1016	SEQ ID NO: 554	ETXS1015	SEQ ID NO: 754	1,08	0,83
ETXM509	ETXS1018	SEQ ID NO: 555	ETXS1017	SEQ ID NO: 755	1,09	0,85
ETXM510	ETXS 1020	SEQ ID NO: 556	ETXS1019	SEQ ID NO: 756	0,98	0,62
ETXM511	ETXS 1022	SEQ ID NO: 557	ETXS1021	SEQ ID NO: 757	0,81	0,87
ETXM512	ETXS 1024	SEQ ID NO: 558	ETXS1023	SEQ ID NO: 758	0,34	0,17
ETXM513	ETXS 1026	SEQ ID NO: 559	ETXS1025	SEQ ID NO: 759	0,49	0,22
ETXM514	ETXS1028	SEQ ID NO: 560	ETXS1027	SEQ ID NO: 760	0,84	0,56

ID del dúplex	ID de la cadena antisentido	SEQ ID NO (AS - mod)	ID de la cadena con sentido	SEQ ID NO (SS - mod)	Expresión relativa media/0,1 nM	Expresión relativa media/5 nM
ETXM515	ETXS1030	SEQ ID NO: 561	ETXS1029	SEQ ID NO: 761	0,93	0,74

Tabla 7 - Tabla de datos de respuesta a la dosis

ID del dúplex	ID de la cadena antisentido	SEQ ID NO (AS - mod)	ID de la cadena con sentido	SEQ ID NO (SS - mod)	Cl ₅₀ [pM]	% de Inhibición máxima
ETXM320	ETXS640	SEQ ID NO: 366	ETXS639	SEQ ID NO: 566	556	77
ETXM321	ETXS642	SEQ ID NO: 367	ETXS641	SEQ ID NO: 567	172	82
ETXM322	ETXS644	SEQ ID NO: 368	ETXS643	SEQ ID NO: 568	101	79
ETXM323	ETXS646	SEQ ID NO: 369	ETXS645	SEQ ID NO: 569	268	79
ETXM325	ETXS650	SEQ ID NO: 371	ETXS649	SEQ ID NO: 571	274	79
ETXM326	ETXS652	SEQ ID NO: 372	ETXS651	SEQ ID NO: 572	607	86
ETXM332	ETXS664	SEQ ID NO: 378	ETXS663	SEQ ID NO: 578	81	85
ETXM333	ETXS666	SEQ ID NO: 379	ETXS665	SEQ ID NO: 579	130	83
ETXM338	ETXS676	SEQ ID NO: 384	ETXS675	SEQ ID NO: 584	33	77
ETXM339	ETXS678	SEQ ID NO: 385	ETXS677	SEQ ID NO: 585	1180	78
ETXM341	ETXS682	SEQ ID NO: 387	ETXS681	SEQ ID NO: 587	186	83
ETXM342	ETXS684	SEQ ID NO: 388	ETXS683	SEQ ID NO: 588	71	63
ETXM343	ETXS686	SEQ ID NO: 389	ETXS685	SEQ ID NO: 589	60	79
ETXM420	ETXS840	SEQ ID NO: 466	ETXS839	SEQ ID NO: 666	2450	77
ETXM421	ETXS842	SEQ ID NO: 467	ETXS841	SEQ ID NO: 667	305	81
ETXM422	ETXS844	SEQ ID NO: 468	ETXS843	SEQ ID NO: 668	502	80
ETXM423	ETXS846	SEQ ID NO: 469	ETXS845	SEQ ID NO: 669	1660	80
ETXM425	ETXS850	SEQ ID NO: 471	ETXS849	SEQ ID NO: 671	1050	89
ETXM426	ETXS852	SEQ ID NO: 472	ETXS851	SEQ ID NO: 672	1570	74
ETXM432	ETXS864	SEQ ID NO: 478	ETXS863	SEQ ID NO: 678	239	85
ETXM433	ETXS866	SEQ ID NO: 479	ETXS865	SEQ ID NO: 679	703	86
ETXM452	ETXS904	SEQ ID NO: 498	ETXS903	SEQ ID NO: 698	82	78
ETXM472	ETXS944	SEQ ID NO: 518	ETXS943	SEQ ID NO: 718	130	77
ETXM492	ETXS984	SEQ ID NO: 538	ETXS983	SEQ ID NO: 738	47	84
ETXM500	ETXS1000	SEQ ID NO: 546	ETXS999	SEQ ID NO: 746	607	70
ETXM501	ETXS1002	SEQ ID NO: 547	ETXS1001	SEQ ID NO: 747	190	74
ETXM502	ETXS1004	SEQ ID NO: 548	ETXS1003	SEQ ID NO: 748	132	76
ETXM503	ETXS1006	SEQ ID NO: 549	ETXS1005	SEQ ID NO: 749	322	75
ETXM505	ETXS1010	SEQ ID NO: 551	ETXS1009	SEQ ID NO: 751	199	72
ETXM506	ETXS1012	SEQ ID NO: 552	ETXS1011	SEQ ID NO: 752	162	82
ETXM512	ETXS1024	SEQ ID NO: 558	ETXS1023	SEQ ID NO: 758	76	84
ETXM513	ETXS1026	SEQ ID NO: 559	ETXS1025	SEQ ID NO: 759	146	77

proporcionan, por ejemplo, para ilustrar diversos aspectos de la invención. Diversas modificaciones a las composiciones y métodos descritos resultarán evidentes a partir de la descripción y las enseñanzas de la presente memoria. Tales variaciones pueden ponerse en práctica sin apartarse del verdadero alcance de la divulgación y se pretende que se encuentren dentro del alcance de la presente divulgación.

En caso de ambigüedad entre las secuencias en esta memoria descriptiva y las secuencias en el listado de secuencias adjunto, las secuencias proporcionadas en la presente memoria se consideran las secuencias correctas.

Ejemplo 11: Murinización de secuencias de ARNsi de ZPI

Las 5 secuencias de ARNsi identificadas en un cribado de transfección de líneas celulares Huh7 como inhibidores de la expresión de ZPI se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8

ID de la secuencia	Con Sentido (5' a 3')	Antisentido (5' a 3')
ETXM342	AAAGAUCUCCAUGAGGCACGA (SEQ ID NO: 268)	UCGUGCCUCAUGGAGAUCUULCG (SEQ ID NO: 148)
ETXM339	UACCAAGGAAAUGCCACCAUG (SEQ ID NO: 265)	CAUGGUGGCAUUCUUGGUAGG (SEQ ID NO: 145)
ETXM338	GCCUUCAUCCACAAGGAUUUU (SEQ ID NO: 264)	AAAAUCCUUGUGGAUGAAGGCAA (SEQ ID NO: 144)
ETXM359	CUCCACCUUUGACAAGAAUUU (SEQ ID NO: 285)	AAAUUCUUGUCAAGGUGGAGGC (SEQ ID NO: 165)
ETXM396	GGAGUUUUUCCUUCUCCACA (SEQ ID NO: 322)	UGUGGAUGAAGGCAAAACUCCCC (SEQ ID NO: 202)

ETXM338, ETXM359 y ETXM396 no reaccionan de manera cruzada con las secuencias de ZPI de ratón y no se usarán en estudios de PoC de ratón. Estas secuencias se murinizaron de manera que fueran homólogas con la secuencia de ZPI de ratón para su uso en estudios en ratón. Las secuencias de ARNsi se alinearon con los transcritos de ZPI de ratón NM_144834.4 y NM_001301404.1 y los nucleótidos que se emparejaban de manera errónea con la secuencia de ratón cambiaron para que concordaran con la secuencia de ratón.

Se cambió ETXM338 a una C en la posición 18 de la cadena con sentido y una G en la posición 4 de la cadena antisentido para dar ETXM1064.

Se cambió ETXM359 a una G en la posición 19 de la cadena con sentido, una C en la posición 3 de la cadena antisentido y una C en la posición 23 de la cadena antisentido para dar ETXM1072.

Se cambió ETXM396 a una U en la posición 2 de la cadena con sentido, una C en la posición 5 de la cadena con sentido, una G en la posición 17 de la cadena antisentido y una A en la posición 20 de la cadena antisentido para dar ETXM1076.

Las secuencias murinizadas se comprobaron mediante búsqueda BLAST para asegurar que no reaccionaban de manera cruzada con otros transcritos de ratón.

Las secuencias de ARNsi murinizadas se muestran en la Tabla 9. Las posiciones cambiadas a la secuencia de ratón están subrayadas.

Tabla 9

ID de la secuencia	Con Sentido (5' a 3')	Antisentido (5' a 3')
ETXM1064	GCCUUCAUCCACAAGGA <u>CUUU</u> (SEQ ID NO: 791)	AAAGUCCUUGUGGAUGAAGGCAA (SEQ ID NO: 787)

ID de la secuencia	Con Sentido (5' a 3')	Antisentido (5' a 3')
ETXM1072	CUCCACCUUGACAAGAAGUU (SEQ ID NO:792)	AA <u>CUUCUUGUCA</u> AAAGGUGGAGGC (SEQ ID NO:788)
ETXM1076	<u>GUAGCUUUGCCU</u> CAUCCACA (SEQ ID NO:793)	UGUGGAUGAAGGCAAAG <u>CU</u> ACCC (SEQ ID NO:789)

Ejemplo 12: Datos de eficacia in vivo en un modelo de ratón con hemofilia

La hemartrosis se define como un sangrado en los espacios articulares que es una característica común de la hemofilia. Una consecuencia a largo plazo de la hemartrosis repetida es el desarrollo de una enfermedad articular permanente conocida como artropatía hemofílica. Alrededor del 50 % de los pacientes con hemofilia desarrollan artropatía grave que da como resultado dolor articular crónico, rango de movimiento y función reducido, y calidad de vida reducida. La artropatía hemofílica se caracteriza por hiperplasia sinovial, inflamación crónica, fibrosis y hemosiderosis.

El modelo de hemartrosis utilizado fue la inducción de un sangrado en la rodilla en ratones haem A y la cepa de tipo salvaje (WT) de fondo apropiada, con la progresión del sangrado en la articulación monitorizada hasta 10 días después de la lesión. Se realizaron dos veces estudios idénticos para aumentar el número de animales para el análisis.

El objetivo de estos estudios repetidos fue demostrar que la administración profiláctica de ETXM1184 podría reducir la hemartrosis en ratones Hemofilia A después de una lesión de sangrado articular. Se usó fitusiran (ARNsi dirigido a antitrombina (AT)) como referencia. Se usó advate (FVIII recombinante) como control positivo.

Para ello, en este estudio se usó un total de 20 ratones Haem A (Bi, L., Lawler, A., Antonarakis, S. et al. Targeted disruption of the mouse factor VIII gene produces a model of haemophilia A. Nat Genet 10, 119-121 (1995). <https://doi.org/10.1038/ng0595-119>) y 10 ratones WT:

Grupo	Cepa de ratón	Tratamiento	Tiempo de dosificación (pre-lesión; días)	Tiempo de terminación (post-lesión; días)	N
1	WT	Vehículo	-8	10	10
2	Haem A	Vehículo	-8	10	10
3	Haem A	Fitusiran - 3 mg/kg s.c	-8	10	10
4	Haem A	Fitusiran - 10 mg/kg s.c	-8	10	10
5	Haem A	ETXM1184 - 3 mg/kg s.c.	-8	10	10
6	Haem A	ETXM1184 - 10 mg/kg s.c.	-8	10	10
7	Haem A	FVIII (Advate) - 300 UI/kg i.v	15 minutos	10	10

8 días antes de la inducción del sangrado de la rodilla, se inyectó a los ratones por vía subcutánea (s.c.) la construcción de GalNAc-ARNsi ETXM1184, fitusiran o un vehículo (solución salina al 0,9 %) a un volumen de dosis de 5 ml/kg. Se inyectó Advate por vía intravenosa 15 minutos antes de la inducción del sangrado articular.

Para inducir el sangrado en la rodilla, los ratones se pesaron y se anestesiaron usando isoflurano como anestésico inhalado. Ambas piernas se afeitaron para exponer la articulación de la rodilla. Se inyectó a los ratones por vía s.c. buprenorfina a 10 ml/kg para analgesia y se midió el diámetro de ambas rodillas con calibradores electrónicos. Posteriormente, ambas rodillas se frotaron con etanol al 70 %.

Se insertó una aguja hipodérmica estéril de 30 G en el ligamento infrapatelar de una rodilla. La rodilla inyectada se aleatorizó entre izquierda y derecha, y se registró el lado inyectado. Los ratones se retiraron del anestésico y se dejó que se recuperaran en una jaula templada antes de volver a la jaula de inicio.

Los ratones se monitorizaron regularmente durante las primeras 6 horas y se les inyectó por vía subcutánea buprenorfina a 10 ml/kg para analgesia a las 6 horas después de la lesión. La puntuación visual de sangrado (VBS) de la rodilla lesionada se evaluó a las 72 horas y 10 días después de la lesión.

Todos los ratones se inspeccionaron cuidadosamente diariamente para detectar signos clínicos de pérdida excesiva de sangre. Los ratones que mostraron signos clínicos de pérdida excesiva de sangre, piloerección,

separación de los compañeros de jaula o gesticulación se sacrificaron por razones de bienestar.

Los ratones se retiraron del estudio a los 10 días después de la lesión.

Se tomó una muestra de sangre citrada mediante punción cardíaca, bajo anestesia con isoflurano, se preparó plasma y se congelaron alícuotas en hielo seco antes de almacenarlas a -80 °C. Para ello, se recogió sangre en citrato de sodio al 3,8 % en una relación de 1 a 9 seguido de centrifugación a 7.000 x g durante 10 minutos a 4 °C. En detalle, se realizaron las siguientes etapas:

1. Recoger sangre por punción cardíaca.

2. Lavar la jeringa y la aguja con solución de citrato de sodio (3,8 %), dejando la solución en el conector de la jeringa (~30 µl).

3. Después de la recogida de sangre, expulsar la muestra en un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml y asegurar que se añade suficiente solución de citrato de sodio (3,8 %) para lograr una relación 1:9 de citrato de sodio:sangre. Añadir la solución de citrato de sodio en el lado del tubo, no directamente a la muestra. Mezclar invirtiendo 4-6 veces. Si no se centrifuga la muestra inmediatamente, mantener en un frigorífico si está disponible o alternativamente en un bloque de hielo envuelto y continuar invirtiendo el tubo de recogida regularmente.

4. Centrifugar las muestras lo antes posible a una velocidad de giro de 7.000 x g durante 10 minutos a 4 °C.

5. Retirar todo el plasma de la muestra y se colocarla en un tubo de microcentrifuga nuevo.

6. Dividir en alícuotas el plasma en tubos etiquetados previamente (Thermo Scientific; 10775974) como sigue:

◦ 30 µl para el ensayo de TGA potencial

◦ 100 µl para el ensayo de APTT potencial

◦ Todos los restantes para análisis de abundancia de proteína diana potencial.

7. Colocar todas las alícuotas en hielo húmedo/seco inmediatamente.

8. Transportar las muestras sobre hielo húmedo/seco.

9. Transferir las muestras a un congelador a -20 °C/-80 °C para almacenarlas hasta su uso.

Se extrajo el hígado y se colocaron hasta 3 porciones de cada lóbulo en RNAlater y se mantuvieron a 4 °C durante 24 a 72 horas. El tejido se secó después con papel secante, se pesó y se almacenó a -80 °C. En detalle, se realizaron las siguientes etapas:

1. Inmediatamente después de la punción cardíaca, matar al ratón por dislocación cervical.

2. Realizar una incisión en la pared abdominal y retirar el hígado lo más rápidamente posible.

3. Colocar el hígado en una placa de petri sobre hielo húmedo, para minimizar la degradación de la muestra.

4. Cortar trozos de hígado de 3 x ~50 mg de cada uno de los lóbulos siguientes: lóbulo lateral izquierdo, lóbulo medial, lóbulo lateral derecho y lóbulo caudado. Colocar estos trozos de hígado inmediatamente en tubos etiquetados previamente (tubos de microcentrifuga de 1,5 ml) que contienen 500 µl de RNAlater, y colocar el tubo de recogida en hielo húmedo.

a. Transportar sobre hielo húmedo y transferir a almacenamiento a 4 °C.

b. Después de un período de 24-72 horas, transferir las muestras de hígado y pesarlas. Registrar los pesos en la hoja de terminal.

c. Transferir a -80 °C para almacenamiento a largo plazo.

5. Recoger cualquier hígado sobrante y colocar en tubos de recogida etiquetados previamente separados (tubos de microcentrifuga de 2 ml).

- a. Congelar en hielo seco para posibles análisis futuros.
- b. Transportar las muestras sobre hielo seco.
- c. Transferir a -80 °C para almacenamiento a largo plazo.

5

6. Limpiar todas las herramientas de disección entre animales para evitar cualquier contaminación cruzada.

10

Se retiró la piel de las patas y se midió la articulación de la rodilla. Las patas se colocaron posteriormente en formalina al 10 % antes de la descalcificación y la preparación del portaobjetos. En detalle, se realizaron las siguientes etapas:

1. Después de la retirada del hígado, medir y registrar el diámetro de la rodilla lesionada y no lesionada.

15

2. Retirar la piel de ambas rodillas. Llevar a cabo una puntuación visual de sangrado y medir las articulaciones de las rodillas.

20

3. Diseccionar las patas desde la parte superior del fémur hasta la articulación del tobillo y retirar algún exceso de músculo, teniendo cuidado de no causar ningún daño a la rodilla y estructuras asociadas. Colocar las rodillas en tubos etiquetados previamente (tubos bijou de 7 ml) que contienen formalina tamponada neutra al 10 % para procesarlas para análisis histológico.

25

Tanto el día 3 como el día 10 después de la inducción del sangrado de rodilla, los ratones Haem A que recibieron la construcción de GalNAc-ARNsi ETXM1184 mostraron una puntuación de sangrado visual significativamente reducida en comparación con los ratones Haem A que recibieron el vehículo (solución salina al 0,9 %) (véase la Fig. 12A y B). Además, el diámetro de la rodilla de los ratones que recibieron la construcción de GalNAc-ARNsi ETXM1184 se recuperó más rápido después de la inducción del sangrado de la rodilla en comparación con ratones que recibieron el vehículo (Fig. 13A). Esta observación se confirmó comparando las diferencias entre el diámetro del diámetro de la rodilla desollada lesionada y no lesionada (Fig. 13B).

30

El análisis de los ratones Haem A 10 días después de la lesión reveló además hiperplasia de la médula ósea menos grave (Fig. 14A), osteoartritis menos grave (Fig. 14B), degeneración/necrosis de condrocitos menos grave (Fig. 14C), hemorragia menos grave (Fig. 14D), deposición de hemosiderina menos grave (Fig. 14E), hematoma menos grave (Fig. 14F), resorción ósea osteoclastogénica menos grave (Fig. 14G), osteólisis menos grave (Fig. 14H), periostitis menos grave (Fig. 14I), esclerosis ósea subcondral menos grave (Fig. 14J), degeneración de tendones menos grave (Fig. 14K), tendinitis menos grave (Fig. 14L) y tenosinovitis menos grave (Fig. 14M) en los ratones que recibieron la construcción de GalNAc-ARNsi ETXM1184 en comparación con los ratones Haem A que recibieron el vehículo (solución salina al 0,9 %).

40

Los datos comparativos entre ETXM1184 y fitusiran se proporcionan en las Fig. 15-20.

Ejemplo 13: Respuesta a la dosis para la inhibición de la expresión de ZPI en células Huh7 humanas

45

Las células Huh7 (línea celular derivada de hepatocitos humanos, obtenida del banco de células JCRB) se mantuvieron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con FBS al 10 % a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %. Las células se transfectaron con dúplex de ARNsi diseñados contra el ARNsi diana o de control negativo a 0,1 nM y 1 nM. La transfección se llevó a cabo añadiendo 9,7 µl de Opti-MEM (ThermoFisher) más 0,3 µl de Lipofectamina RNAiMAX (ThermoFisher) a 10 µl de cada dúplex de ARNsi. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de añadirse a 100 µl de medio de crecimiento completo que contenía 20.000 células Huh7. Las células se incubaron durante 24 horas a 37 °C/CO₂ al 5 % antes de la purificación del ARN total usando un kit RNeasy 96 (Qiagen). Cada dúplex se ensayó por transfección en pocillos duplicados y el experimento se repitió tres veces.

50

55

La síntesis de ADNc se realizó usando el kit FastKing RT (con gADNasa) (Tiangen). Se realizó PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) en un ABI Prism 7900HT o ABI QuantStudio 7 con cebadores específicos para ZPI humano (Hs01547819_m1) y GAPDH humana (Hs02786624_gl) usando un kit de ensayo de expresión génica TaqMan (ThermoFisher Scientific).

60

La qPCR se realizó por duplicado en ADNc derivado de cada pocillo y se calculó la Ct media. La expresión relativa de la diana se calculó a partir de los valores medios de Ct usando el método comparativo de Ct ($\Delta\Delta Ct$), normalizado para GAPDH y con respecto a células no tratadas.

65

Para la inhibición de ZPI, se ensayaron los dúplex de ARNsi ETXM1184, ETXM1199, ETXM1200, ETXM1201, ETXM1202, ETXM1203, ETXM1204, ETXM1205, ETXM1206 y ETXM1207 (Fig. 21).

REIVINDICACIONES

1. Un ácido nucleico para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como hemofilia,

en donde el ácido nucleico es para inhibir la expresión de ZPI, y comprende una región dúplex que comprende una primera cadena y una segunda cadena que es al menos parcialmente complementaria a la primera cadena, en donde dicha primera cadena es:

(i) al menos parcialmente complementario a una parte del ARN transcrito a partir del gen ZPI, y

(ii) comprende al menos 17 nucleósidos contiguos que difieren por 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de las secuencias de la primera cadena como se enumera en la Tabla 2, y

en donde el ácido nucleico comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de la siguiente primera y segunda secuencia:

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 145	SEQ ID NO: 265
SEQ ID NO: 148	SEQ ID NO: 268
SEQ ID NO: 126	SEQ ID NO: 246
SEQ ID NO: 127	SEQ ID NO: 247
SEQ ID NO: 128	SEQ ID NO: 248
SEQ ID NO: 129	SEQ ID NO: 249
SEQ ID NO: 131	SEQ ID NO: 251
SEQ ID NO: 132	SEQ ID NO: 252
SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 258
SEQ ID NO: 139	SEQ ID NO: 259
SEQ ID NO: 144	SEQ ID NO: 264
SEQ ID NO: 147	SEQ ID NO: 267
SEQ ID NO: 149	SEQ ID NO: 269
SEQ ID NO: 226	SEQ ID NO: 346
SEQ ID NO: 227	SEQ ID NO: 347
SEQ ID NO: 228	SEQ ID NO: 348
SEQ ID NO: 229	SEQ ID NO: 349
SEQ ID NO: 231	SEQ ID NO: 351
SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO: 352
SEQ ID NO: 238	SEQ ID NO: 358
SEQ ID NO: 239	SEQ ID NO: 359

2. Un ácido nucleico para su uso según la reivindicación 1, que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de la siguiente primera y segunda secuencia:

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 128	SEQ ID NO: 248
SEQ ID NO: 144	SEQ ID NO: 264
SEQ ID NO: 148	SEQ ID NO: 268
SEQ ID NO: 149	SEQ ID NO: 269

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 258

3. Un ácido nucleico para su uso según la reivindicación 1, que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de la siguiente primera y segunda secuencia:

5

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 148	SEQ ID NO: 268
SEQ ID NO: 145	SEQ ID NO: 265
SEQ ID NO: 144	SEQ ID NO: 264
SEQ ID NO: 165	SEQ ID NO: 285
SEQ ID NO: 202	SEQ ID NO: 322

4. Un ácido nucleico para su uso según la reivindicación 1, que comprende una primera y una segunda cadena que comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una secuencia de nucleósidos que difiere en 0 o 1 nucleósido de una cualquiera de la siguiente primera y segunda secuencia:

10

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 145	SEQ ID NO: 265
SEQ ID NO: 148	SEQ ID NO: 268

opcionalmente

Primera cadena no modificada	Segunda cadena no modificada
SEQ ID NO: 145	SEQ ID NO: 265

5. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde la primera cadena tiene una longitud en el rango de 17 a 30 nucleósidos, preferiblemente 19 a 25 nucleósidos, más preferiblemente 19 o 23 nucleósidos.

15

6. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde la segunda cadena tiene una longitud en el rango de 17 a 30 nucleósidos, preferiblemente 19 a 25 nucleósidos, más preferiblemente 19 o 21 nucleósidos.

20

7. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde la región dúplex del ácido nucleico tiene una longitud entre 17 y 30 nucleósidos, más preferiblemente tiene una longitud de 19 o 21 nucleósidos.

25

8. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde la región de complementariedad entre la primera cadena y la porción de ARN transcrito a partir del gen ZPI tiene una longitud entre 17 y 30 nucleósidos.

30

9. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde el ácido nucleico comprende una o más protuberancias de nucleósidos monocatenarios, opcionalmente en donde la protuberancia está presente en la primera o segunda cadena, preferiblemente en el extremo 3' de la primera o segunda cadena, y/o en donde la protuberancia comprende de 1 a 4 nucleósidos, más preferiblemente 2 nucleósidos.

35

10. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde el ácido nucleico es un oligonucleósido de ARNsi.

11. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde uno o más nucleósidos en la primera y/o segunda cadena están modificados, para formar nucleósidos modificados.

40

12. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, que comprende además uno o más nucleósidos abásicos, opcionalmente en donde el uno o más nucleósidos abásicos están en una región terminal de la segunda cadena, y/o en donde al menos un nucleósido abásico está unido a un nucleósido básico adyacente a través de un enlace internucleosídico inverso.

45

13. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde el ácido nucleico comprende uno o más enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
- 5 14. Un ácido nucleico para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde el ácido nucleico se conjuga directa o indirectamente con uno o más restos de ligando, opcionalmente en donde dicho resto de ligando está presente en una región terminal de la segunda cadena, preferiblemente en la región 3' terminal de la misma.
- 10 15. Una composición farmacéutica para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad relacionada con un trastorno de la hemostasia, tal como hemofilia, que comprende un ácido nucleico como se divulga en cualquier reivindicación anterior, en combinación con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

DIBUJOS

Figura 1

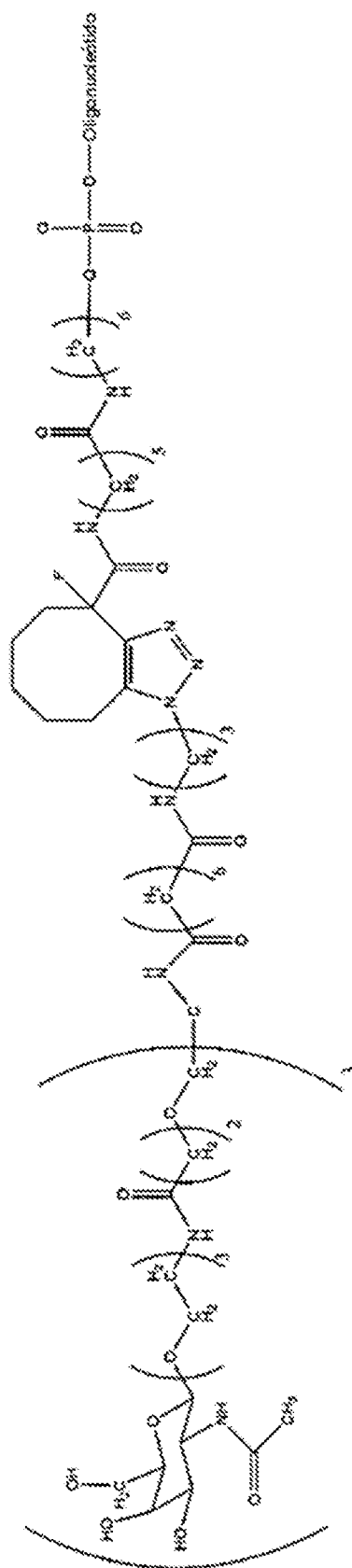


Figura 3

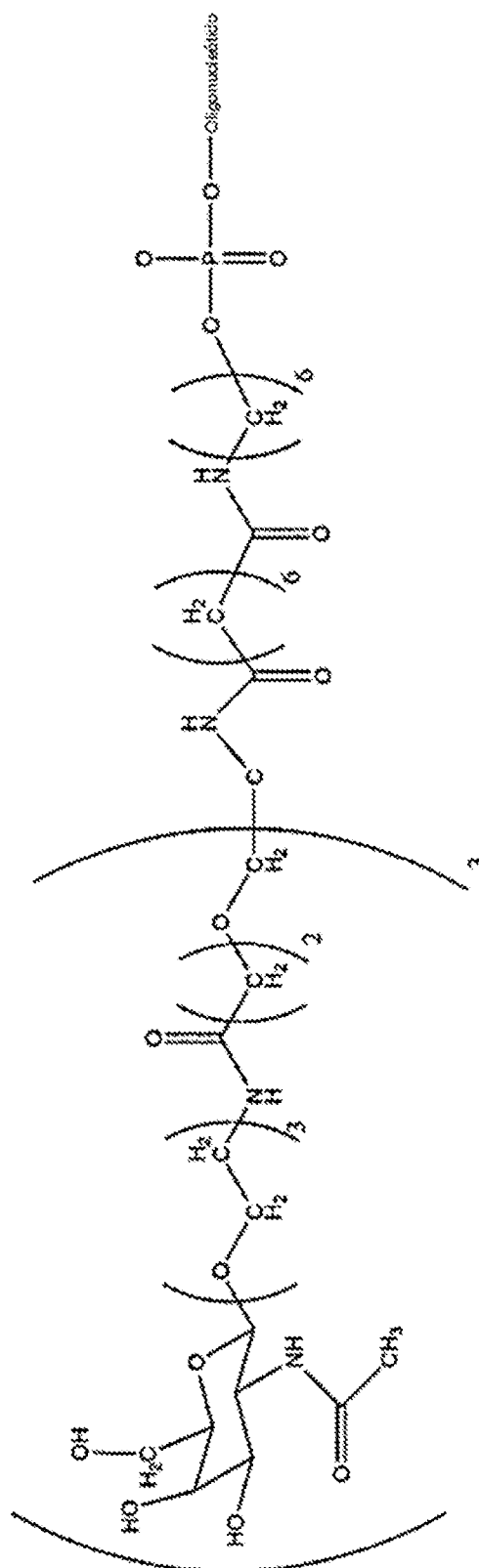


Figura 4

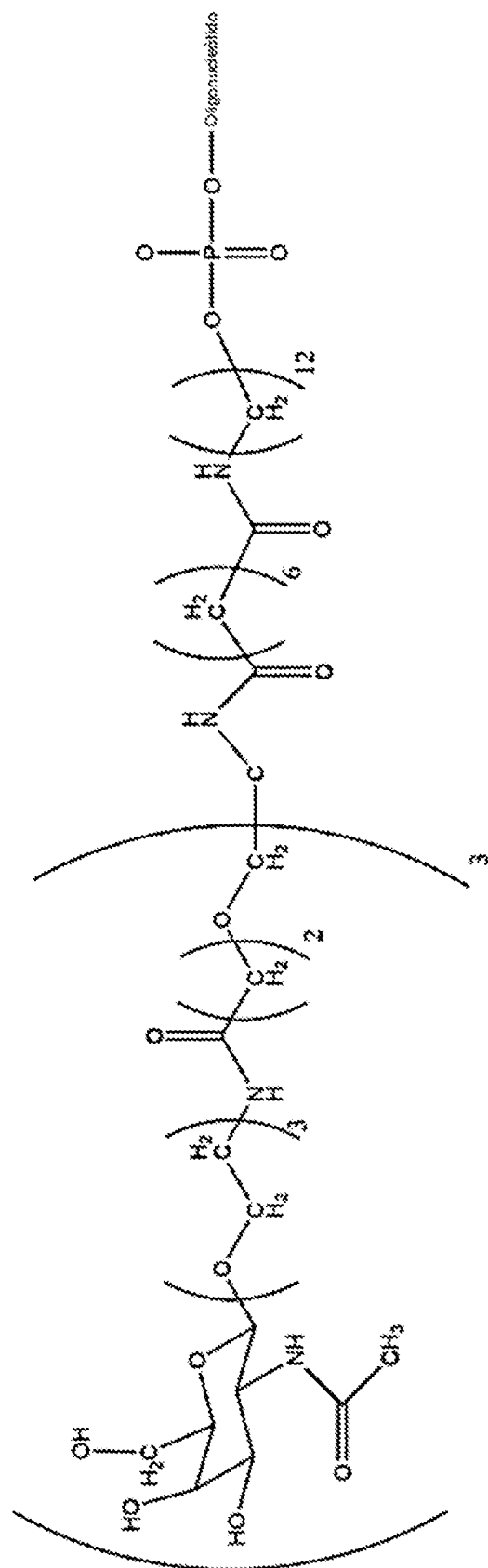
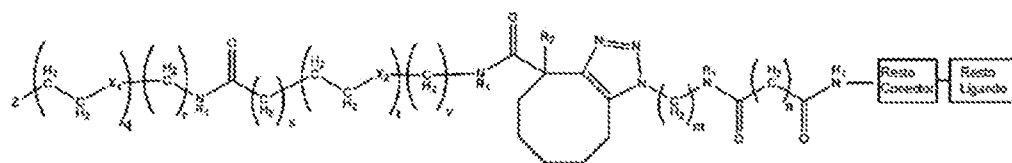
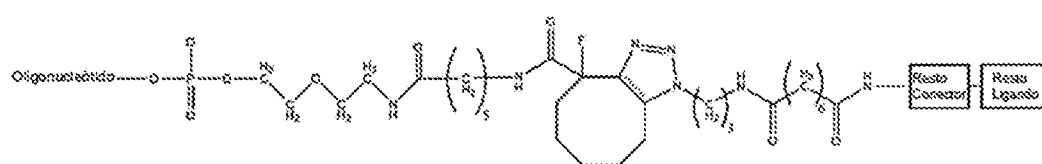


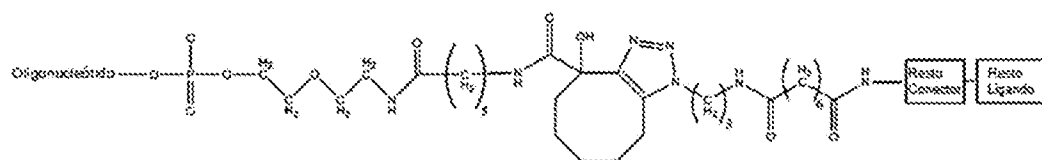
Figura 5 (de las Frases 1 -101)



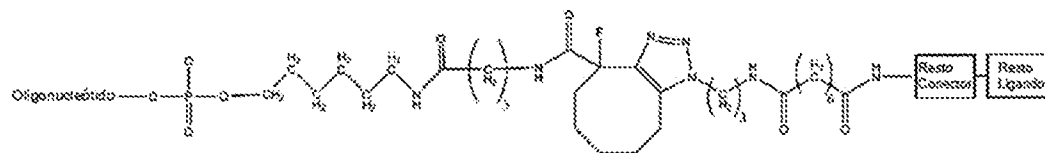
Fórmula (I)



Fórmula (II)

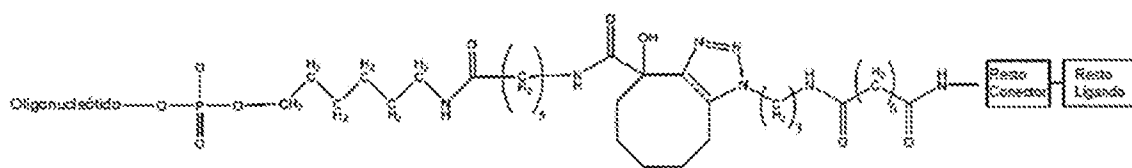


Fórmula (III)

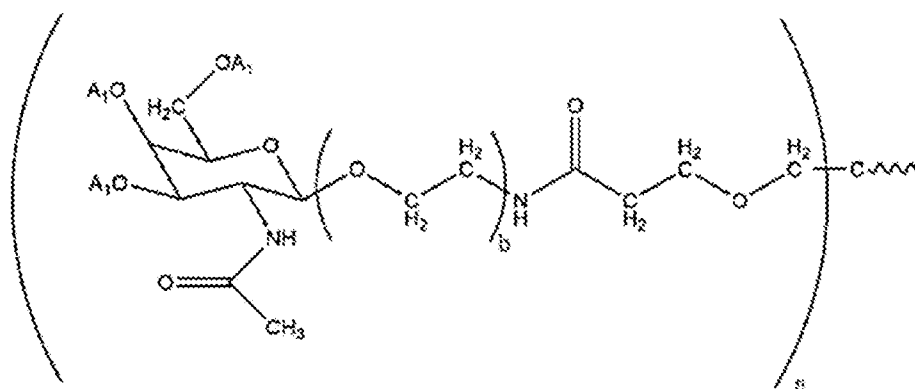


Fórmula (IV)

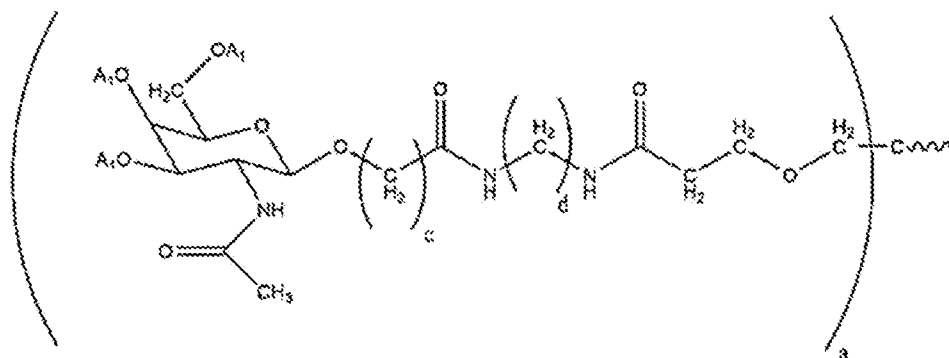
Figura 5 cont.



Fórmula (V)

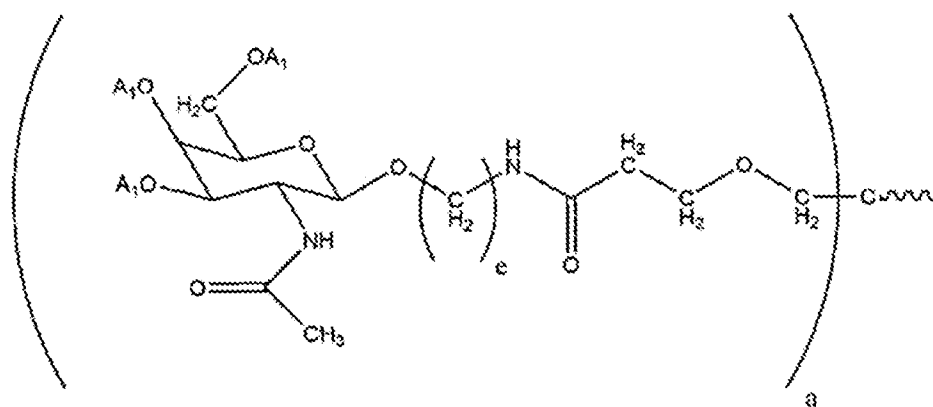


Fórmula (VIa)

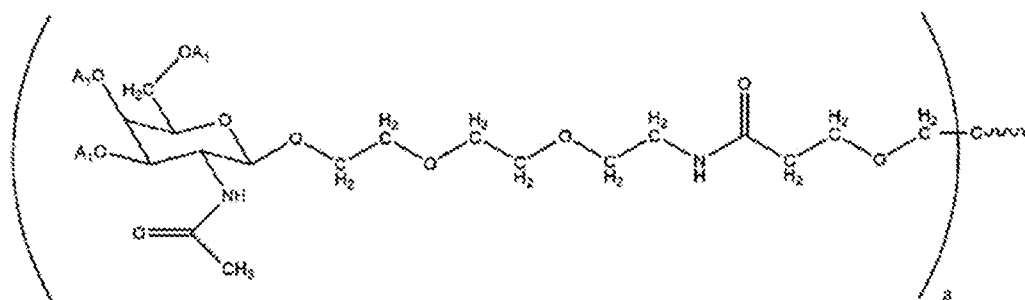


Fórmula (VIb)

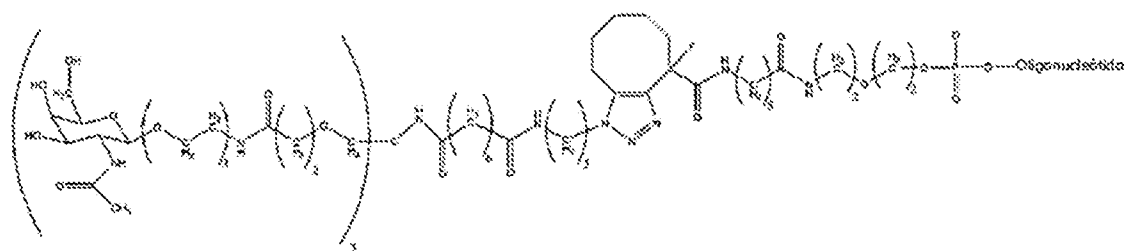
Figura 5 cont.



Fórmula (VIc)

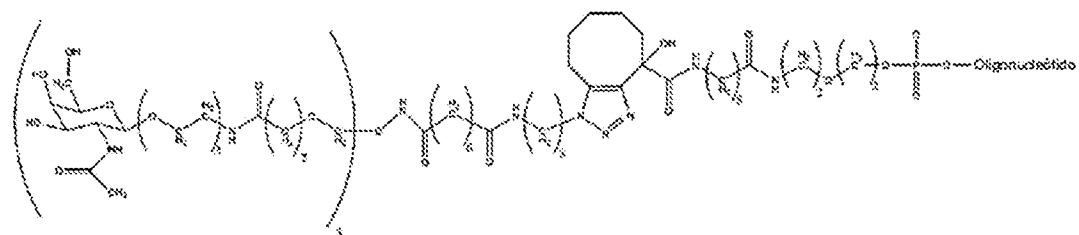


Fórmula (VII)

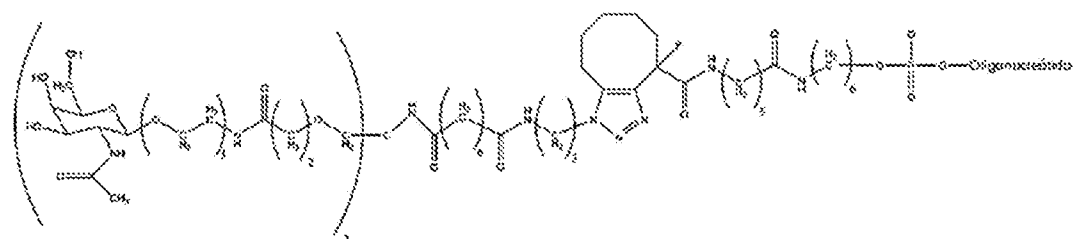


Fórmula (VIII)

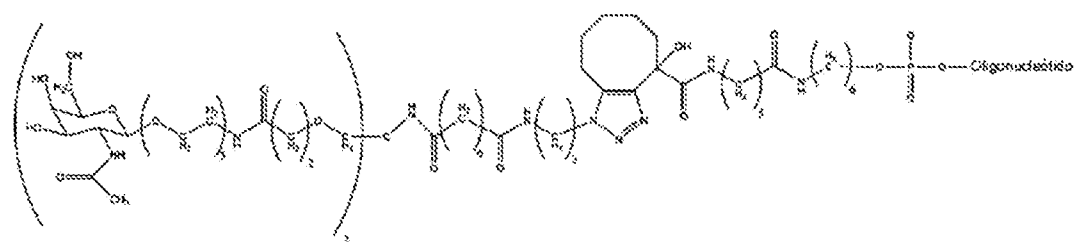
Figura 5 cont.



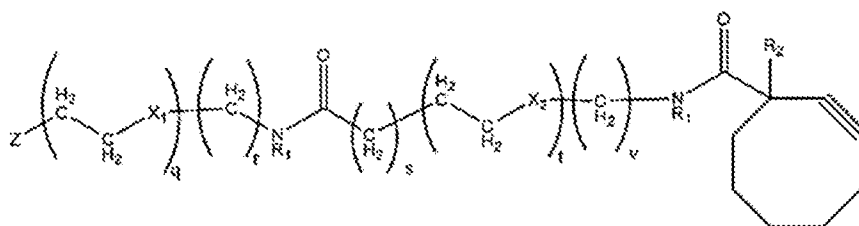
Fórmula (IX)



Fórmula (X)

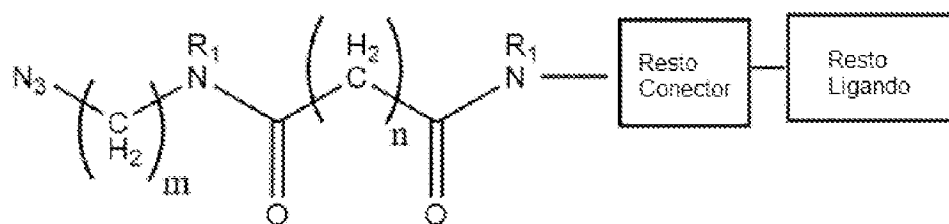


Fórmula (XI)

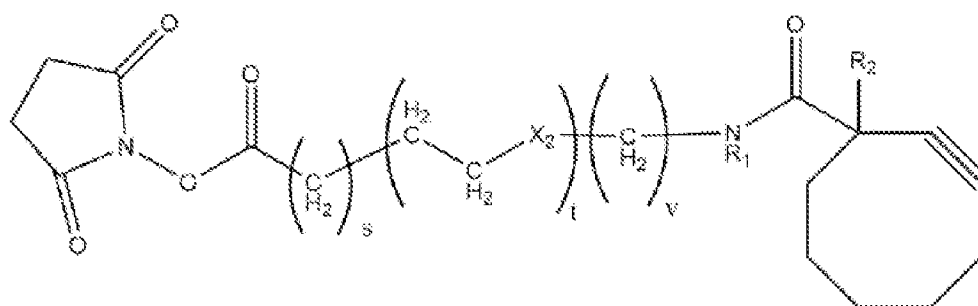


Fórmula (XII)

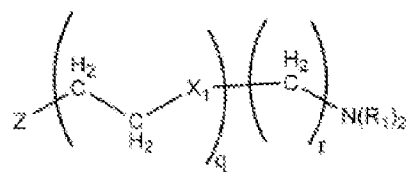
Figura 5 cont.



Fórmula (XIII)

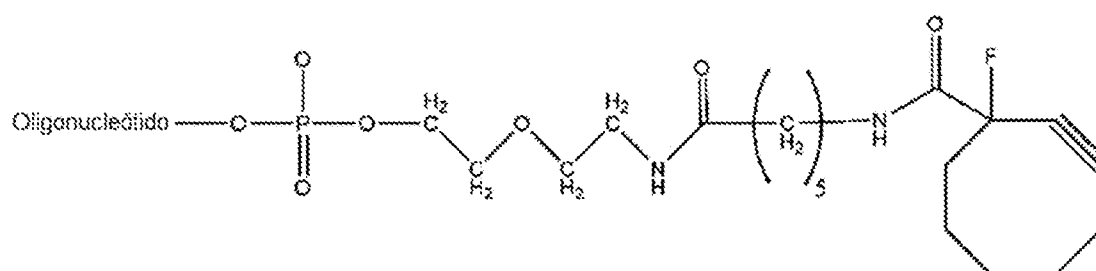


Fórmula (XIV)

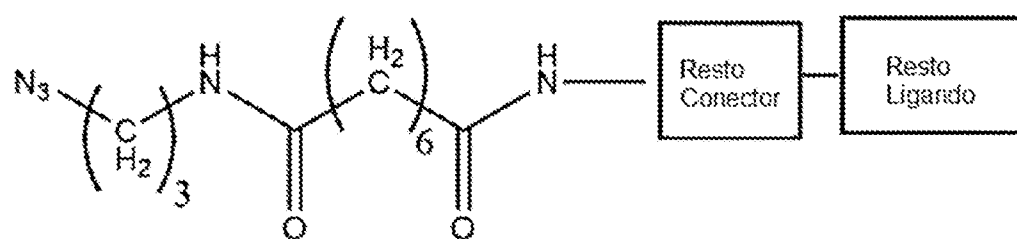


Fórmula (XV)

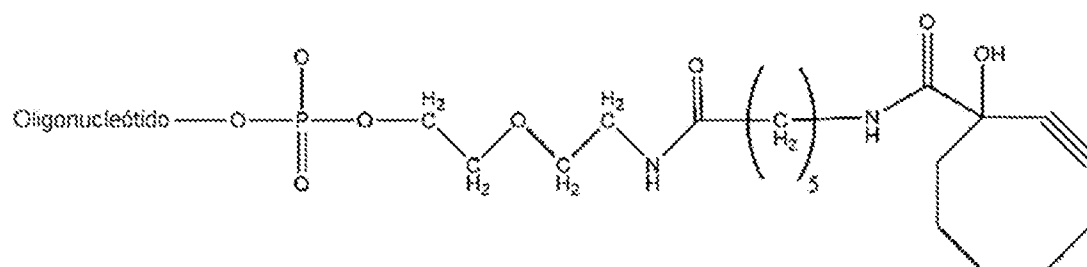
Figura 5 cont.



Fórmula (XIIa)

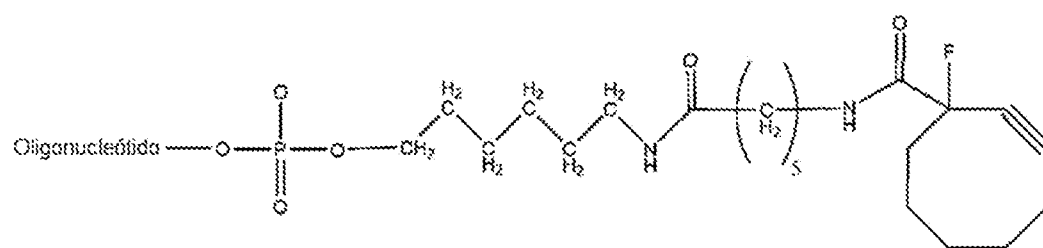


Fórmula (XIIIa)

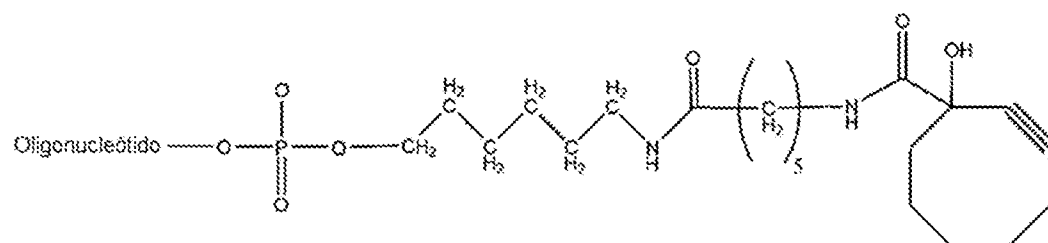


Fórmula (XIIb)

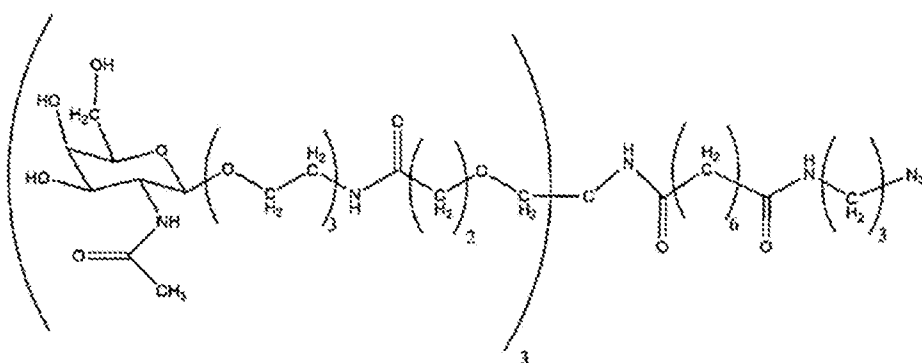
Figura 5 cont.



Fórmula (XIIc)

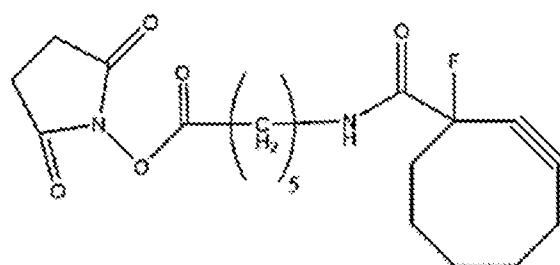


Fórmula (XIIId)

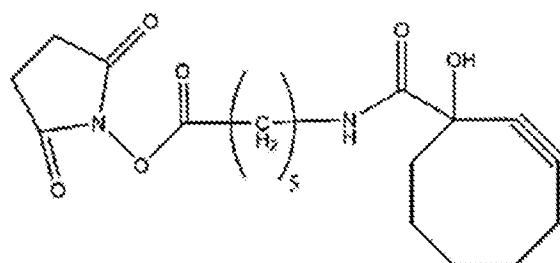


Fórmula (XIIIb)

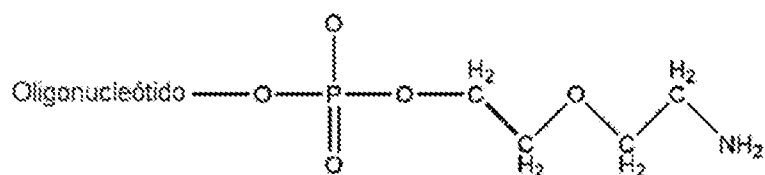
Figura 5 cont.



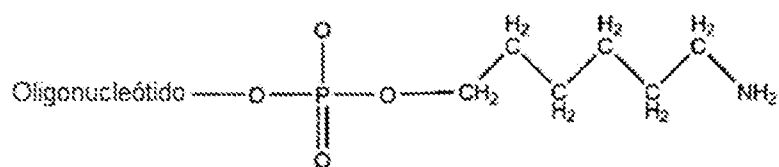
Fórmula (XIVa)



Fórmula (XIVb)

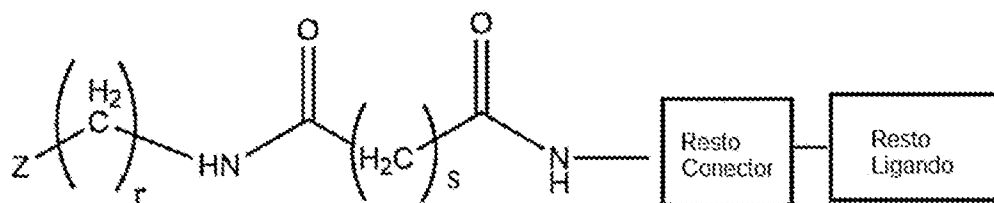


Fórmula (XVa)

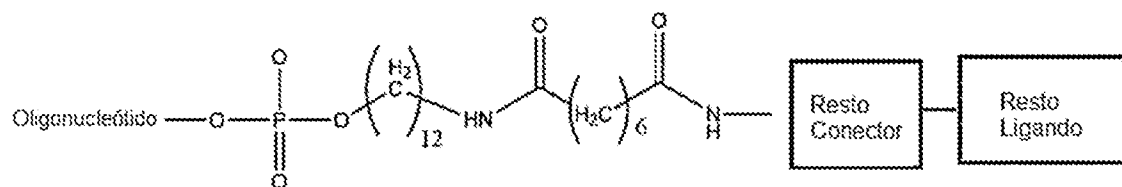


Fórmula (XVb)

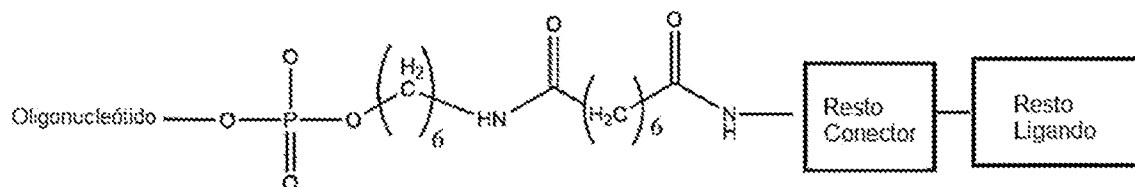
Figura 6 (Fórmulas de las Cláusulas 1-56)



Fórmula (I)

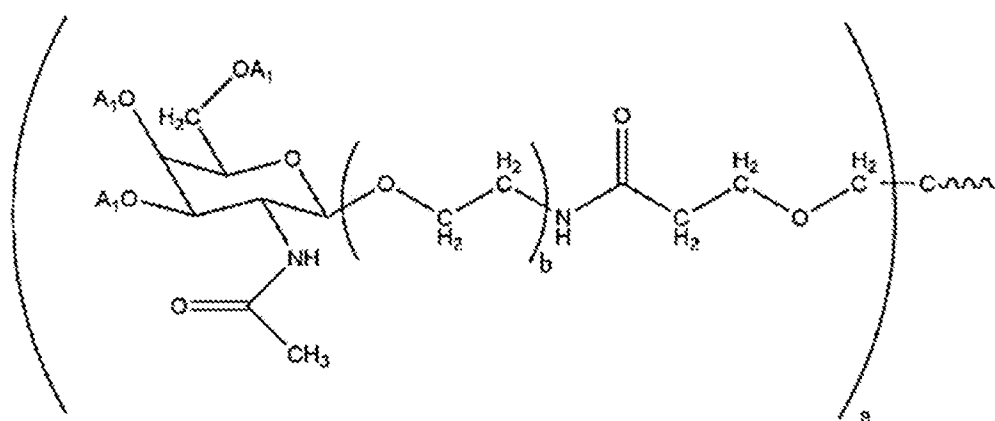


Fórmula (II)

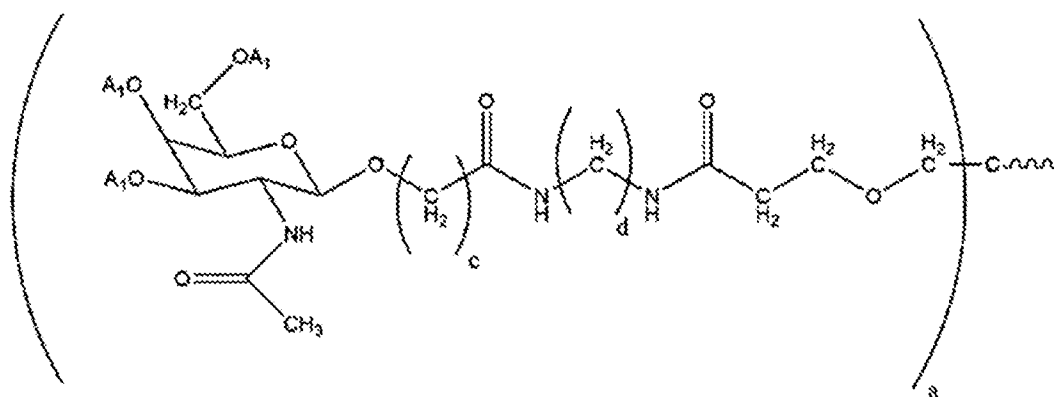


Fórmula (III)

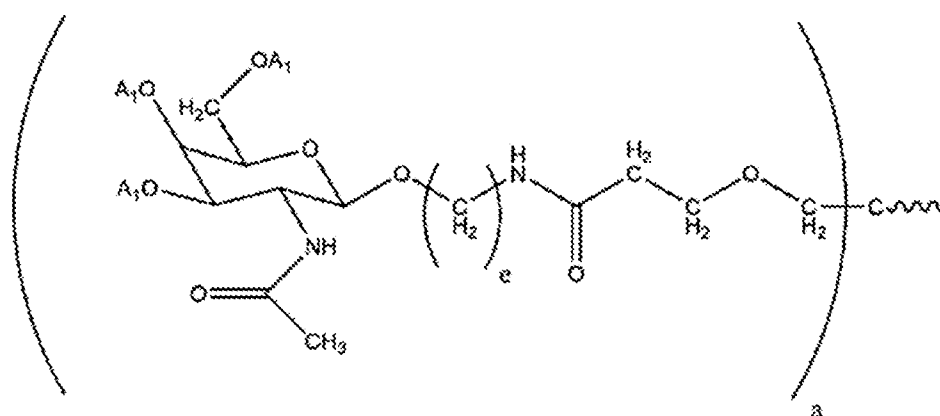
Figura 6 cont.



Fórmula (IV)

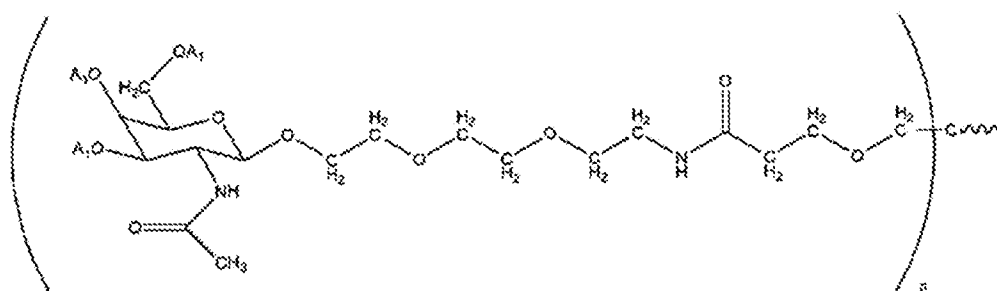


Fórmula (V)

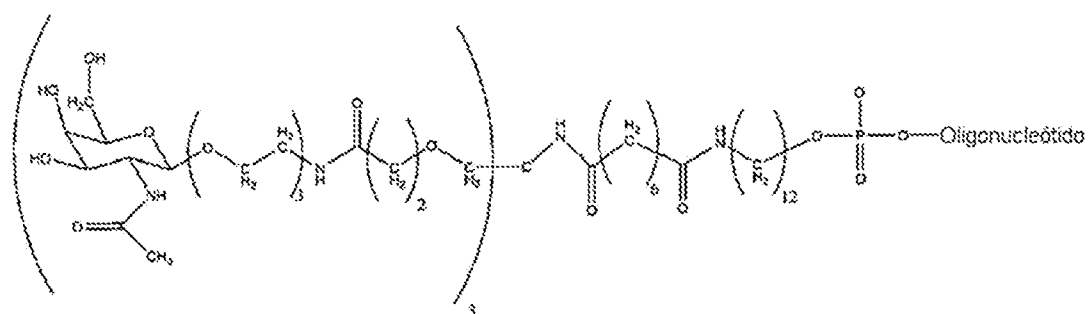


Fórmula (VI)

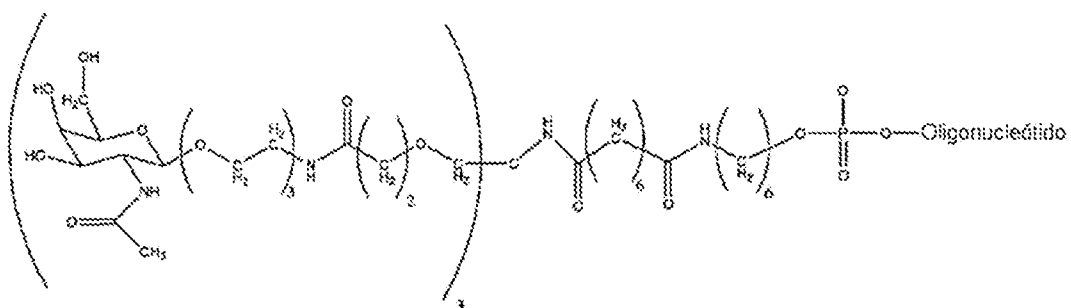
Figura 6 cont.



Fórmula (VII)

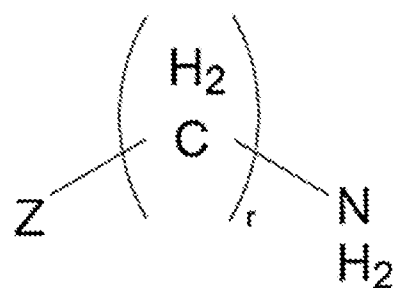


Fórmula (VIII)

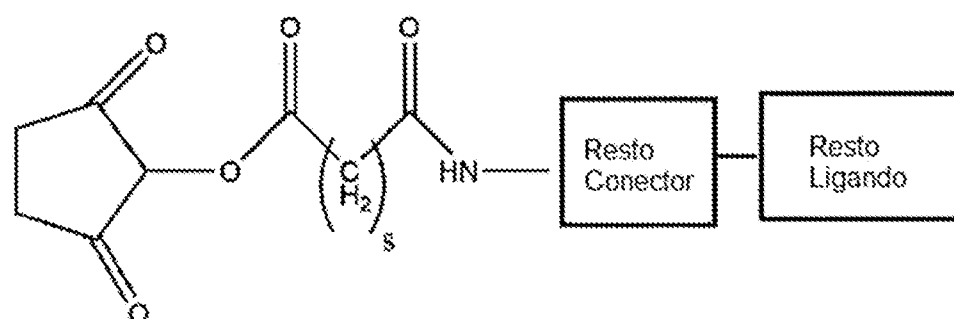


Fórmula (IX)

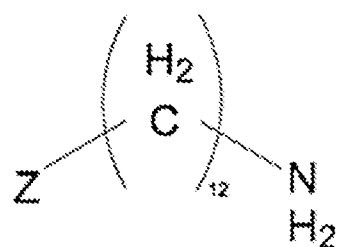
Figura 6 cont.



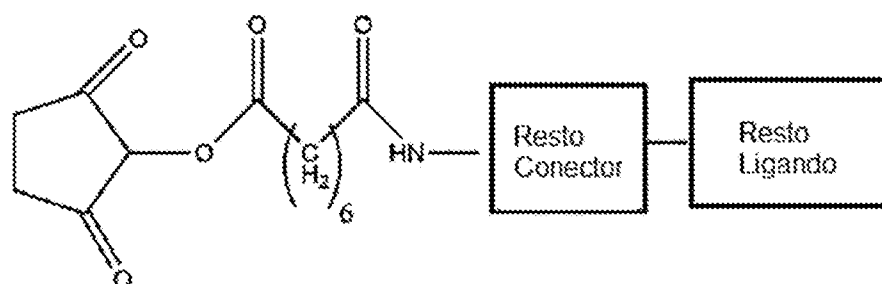
Fórmula (X)



Fórmula (XI)

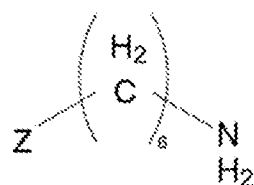


Fórmula (XIa)

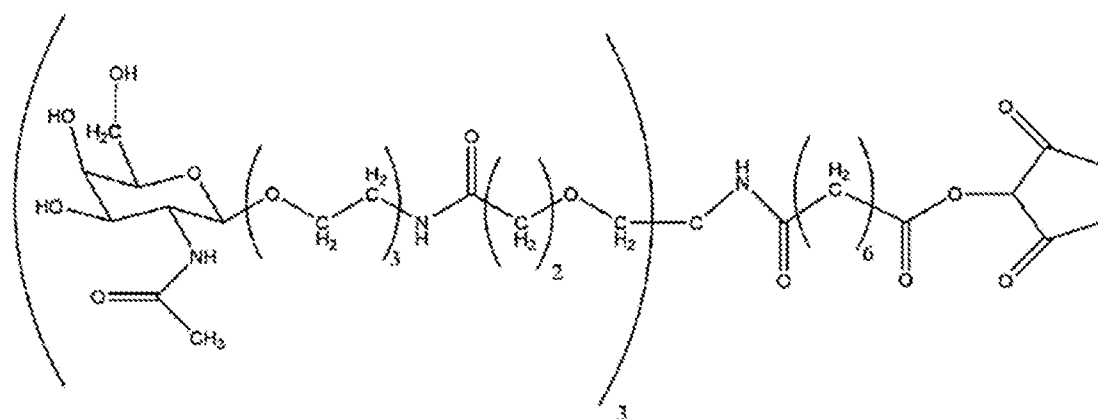


Fórmula (XIa)

Figura 6 cont.



Fórmula (Xb)



Fórmula (XIb)

Figura 7

Figura 7a:

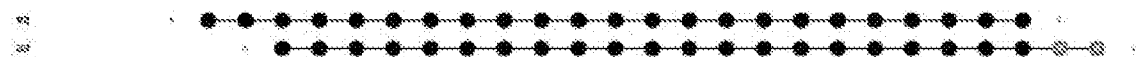


Figura 7b:

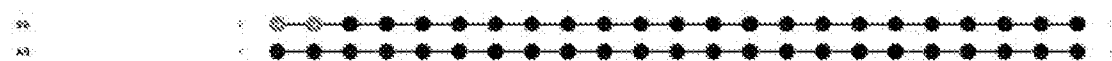


Figura 8

Figura 8a:

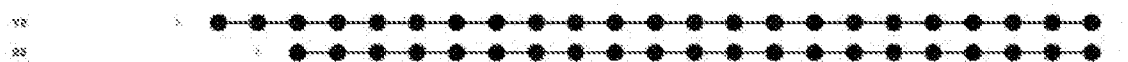


Figura 8b:



Figura 9

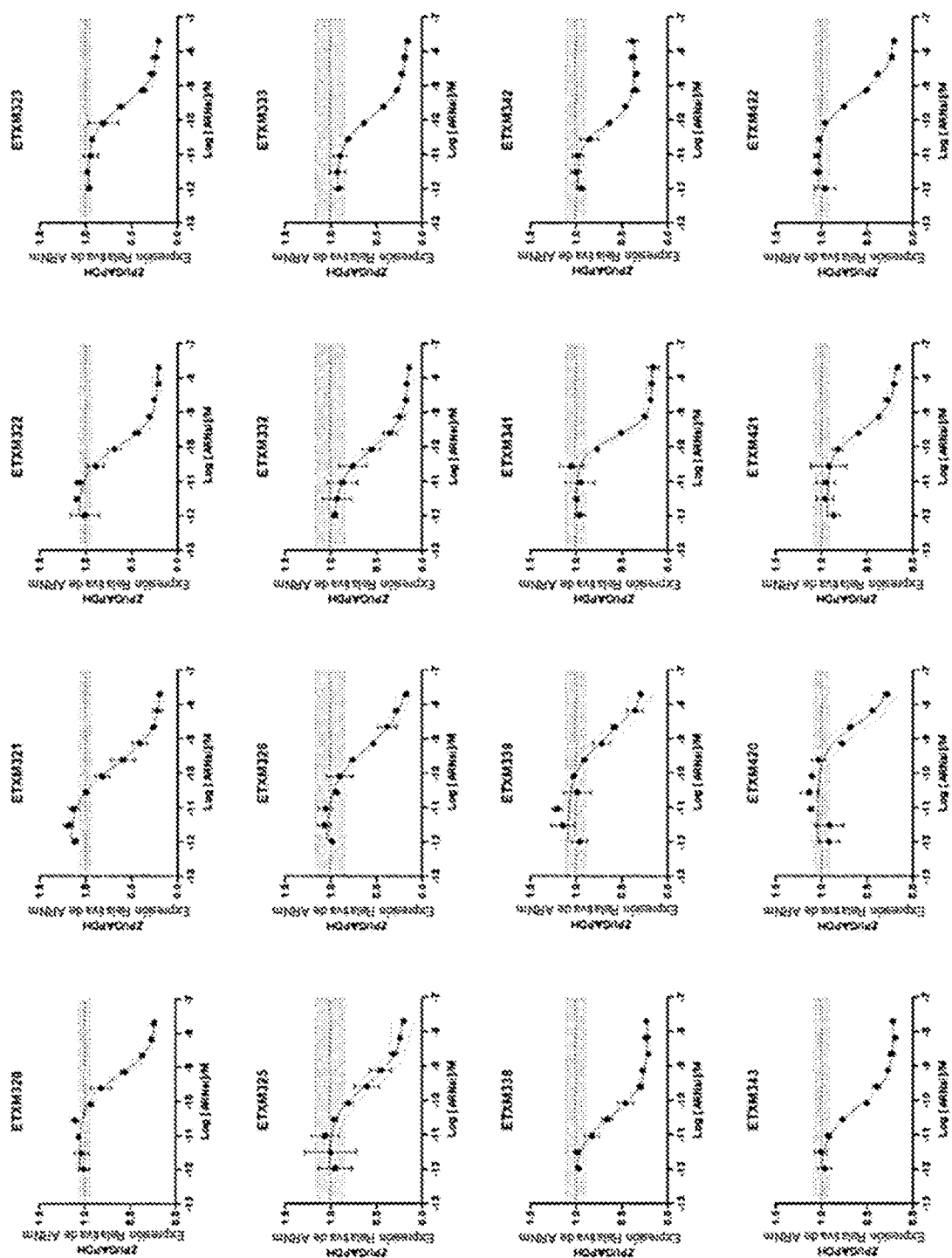


Figura 9 cont.

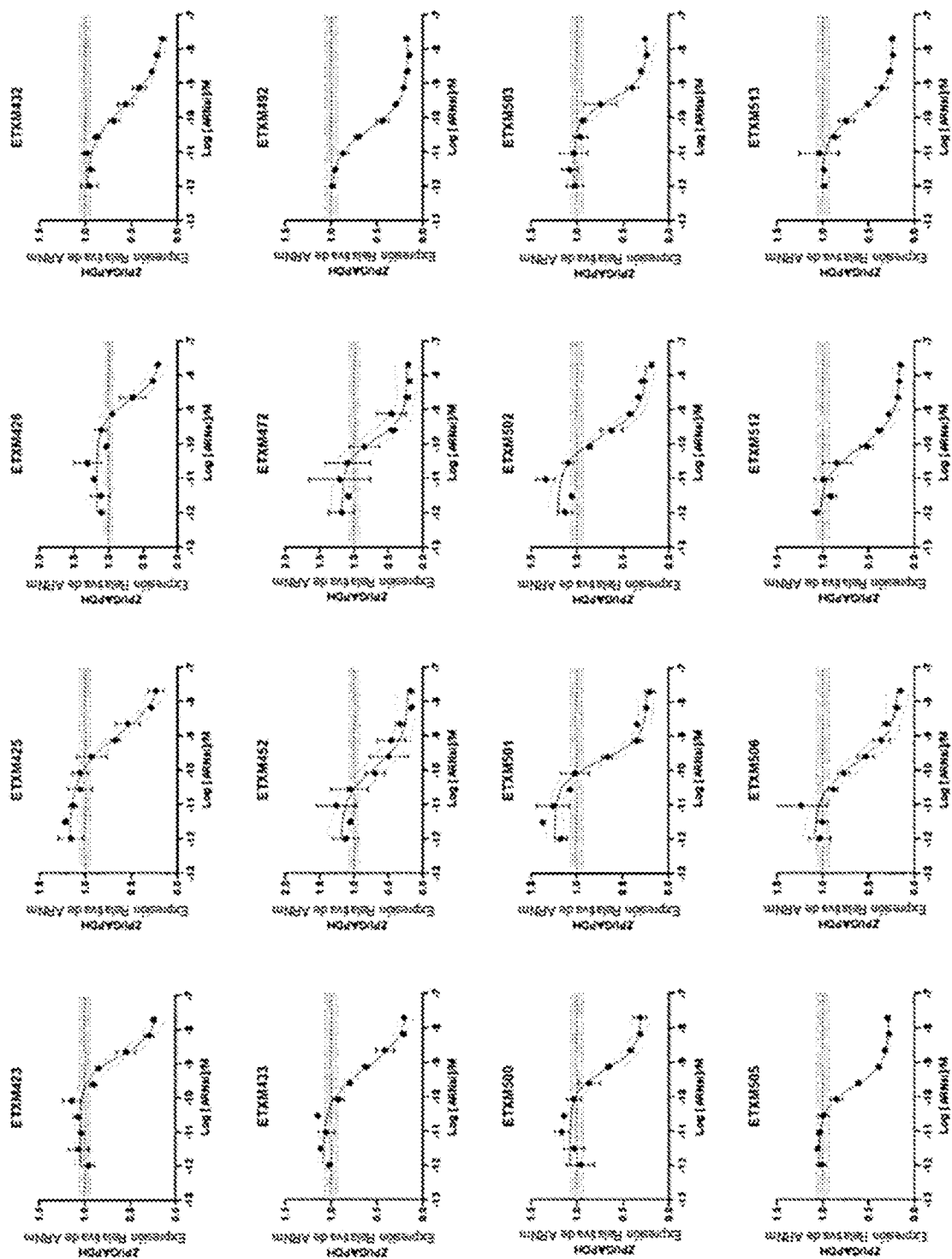


Figura 10

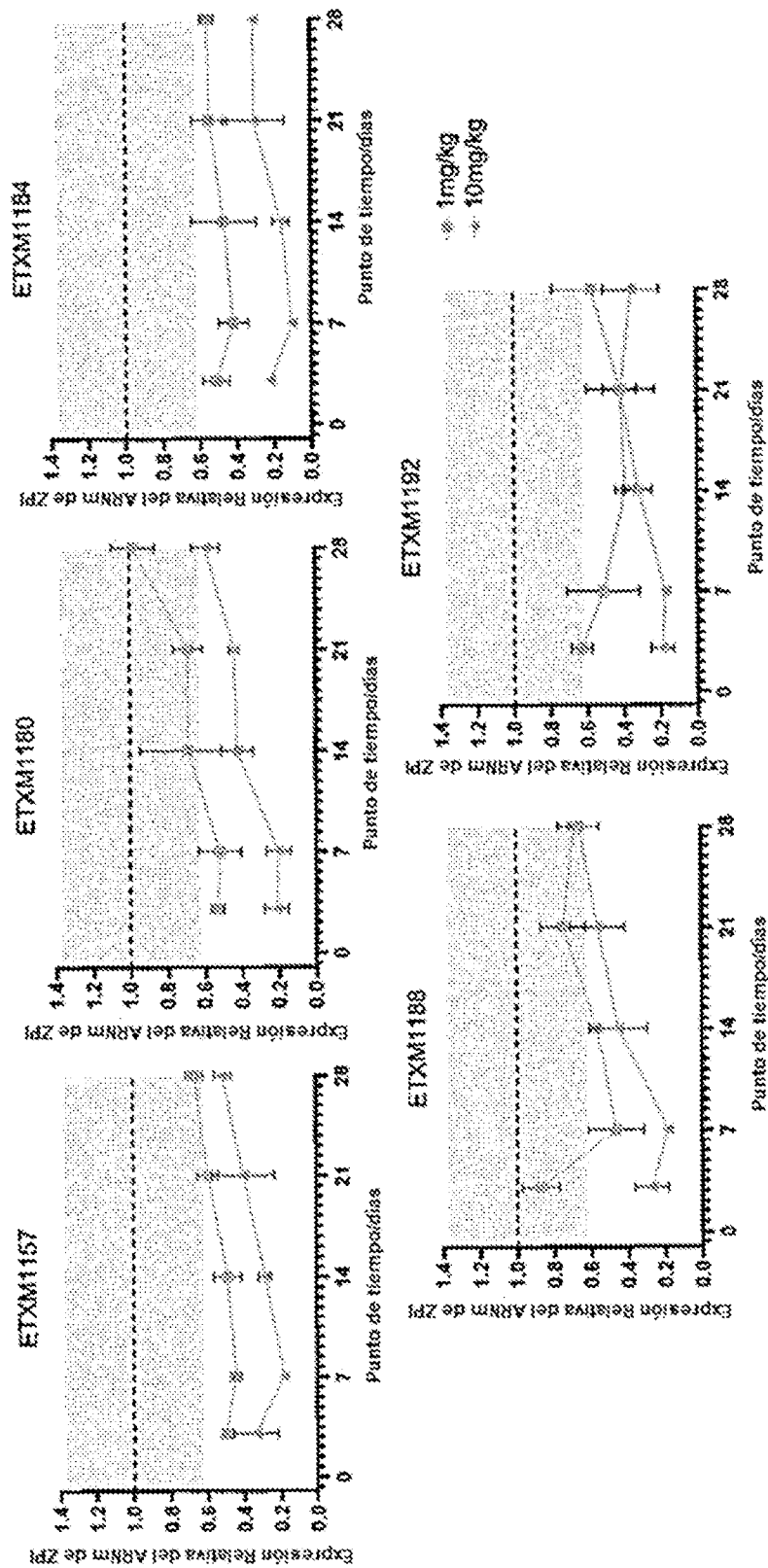


Figura 11

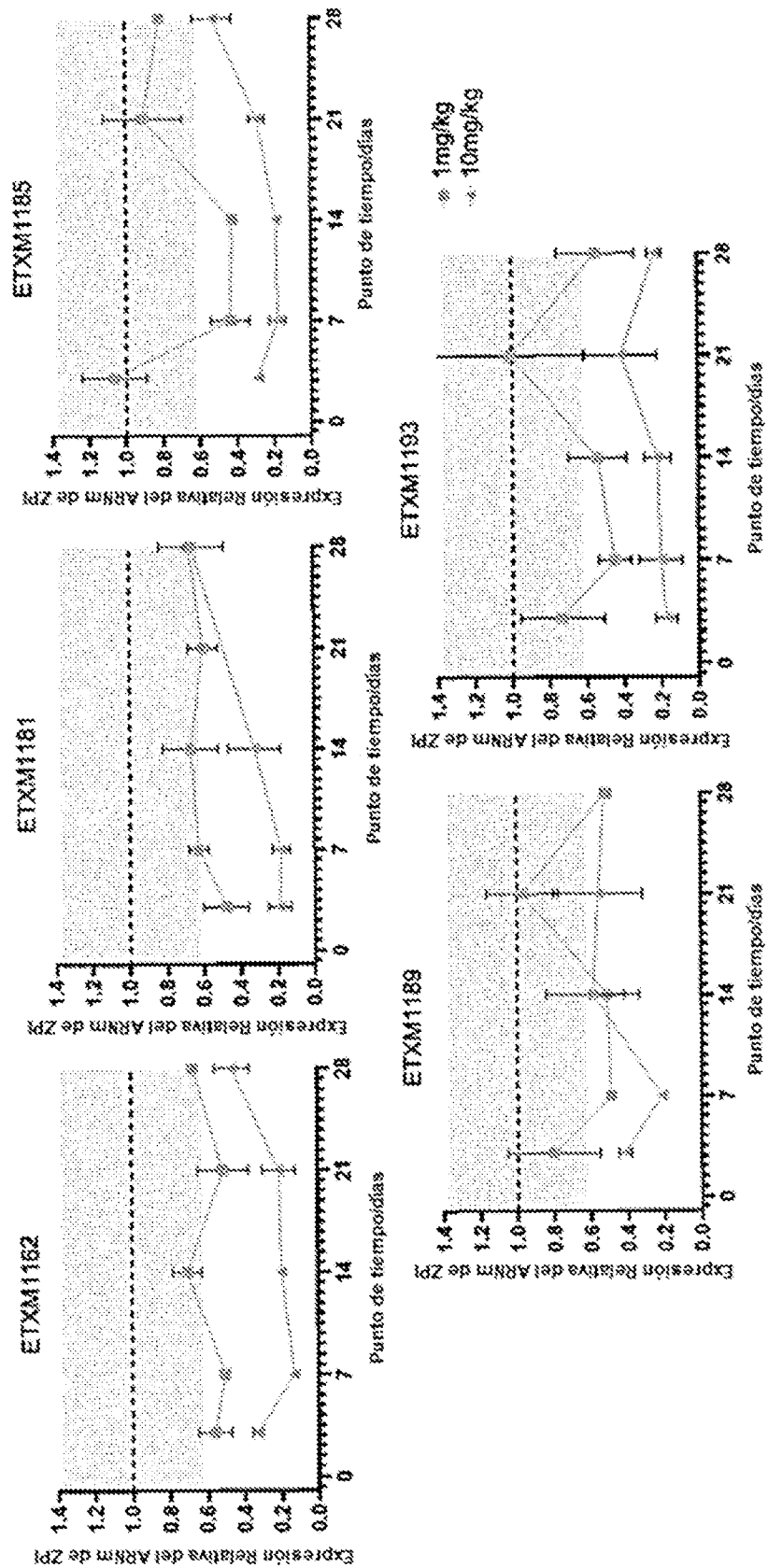
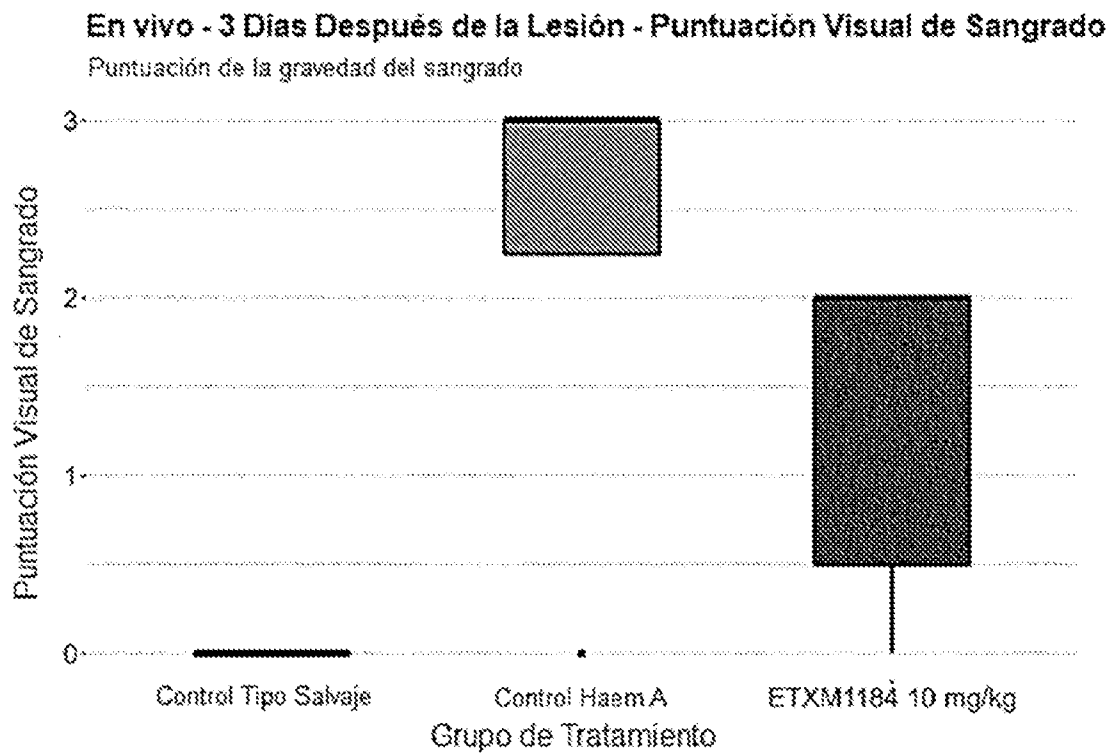
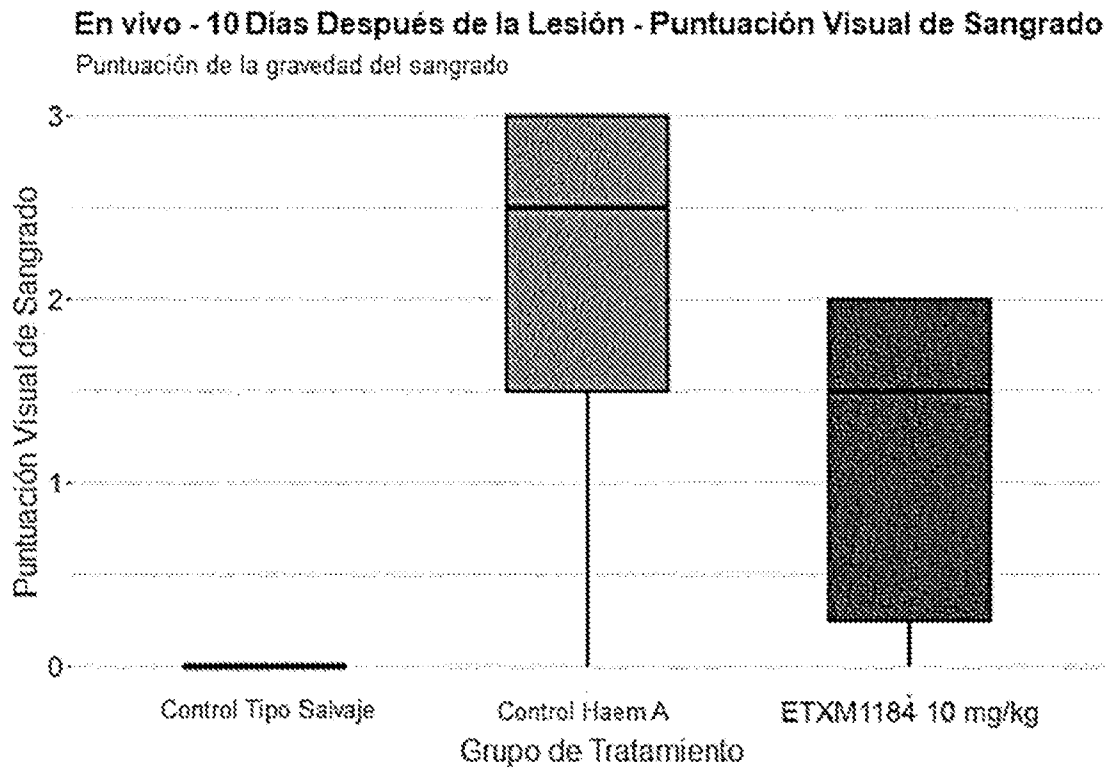


Figura 12A



- 0 - la cápsula articular no está distendida, sin sangre presente en el espacio articular
- 1 - la cápsula articular no está distendida, con sangre presente en el espacio articular
- 2 - la cápsula articular está distendida, pero no tensa, con sangre presente en el espacio articular
- 3 - la cápsula articular está distendida y tensa, con sangre presente en el espacio articular

Figura 12B



- 0 - la cápsula articular no está distendida, sin sangre presente en el espacio articular
- 1 - la cápsula articular no está distendida, con sangre presente en el espacio articular
- 2 - la cápsula articular está distendida, pero no tensa, con sangre presente en el espacio articular
- 3 - la cápsula articular está distendida y tensa, con sangre presente en el espacio articular

Figura 13A

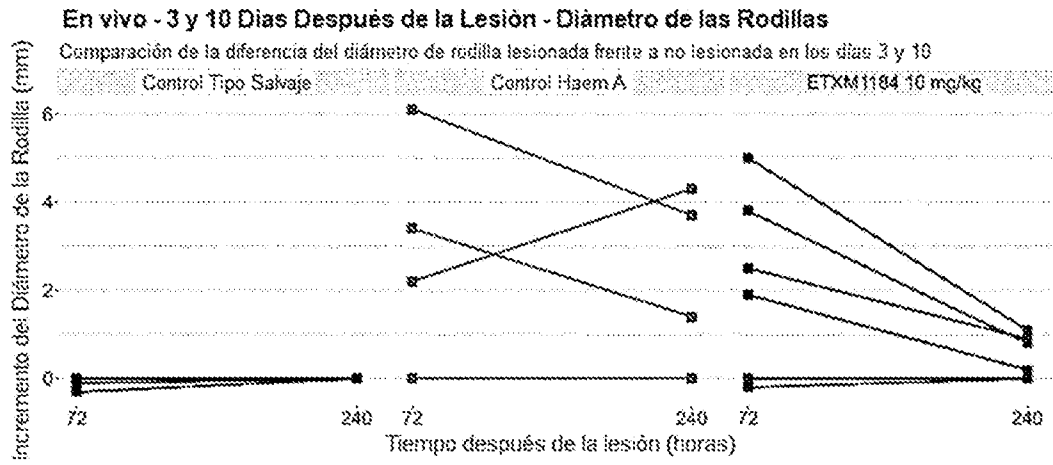


Figura 13B

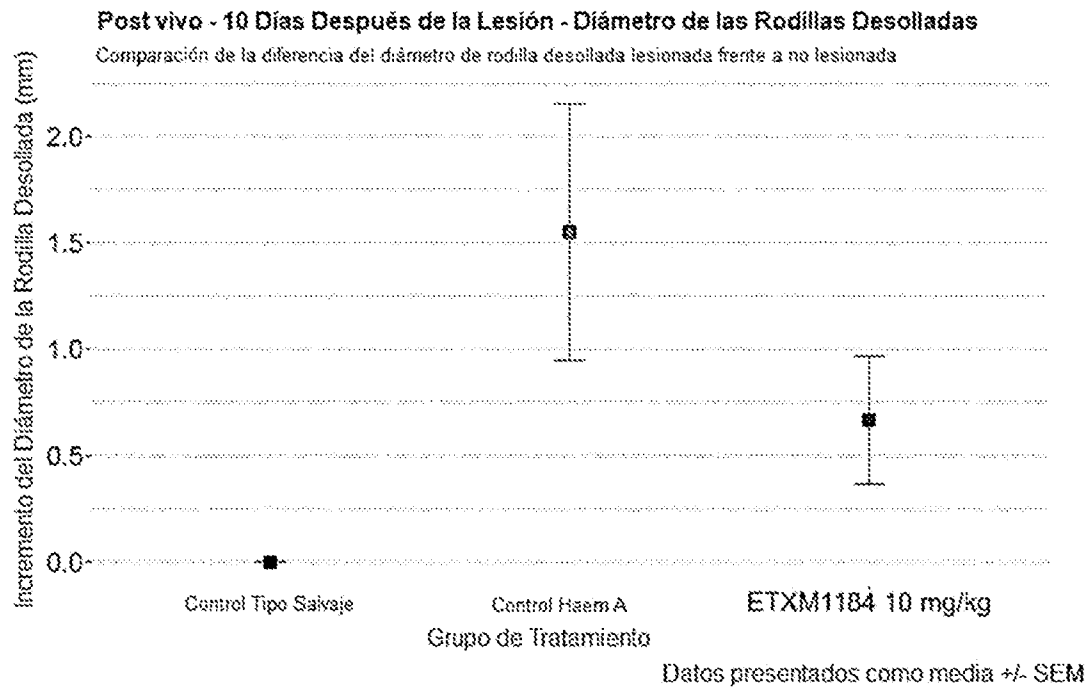


Figura 14A

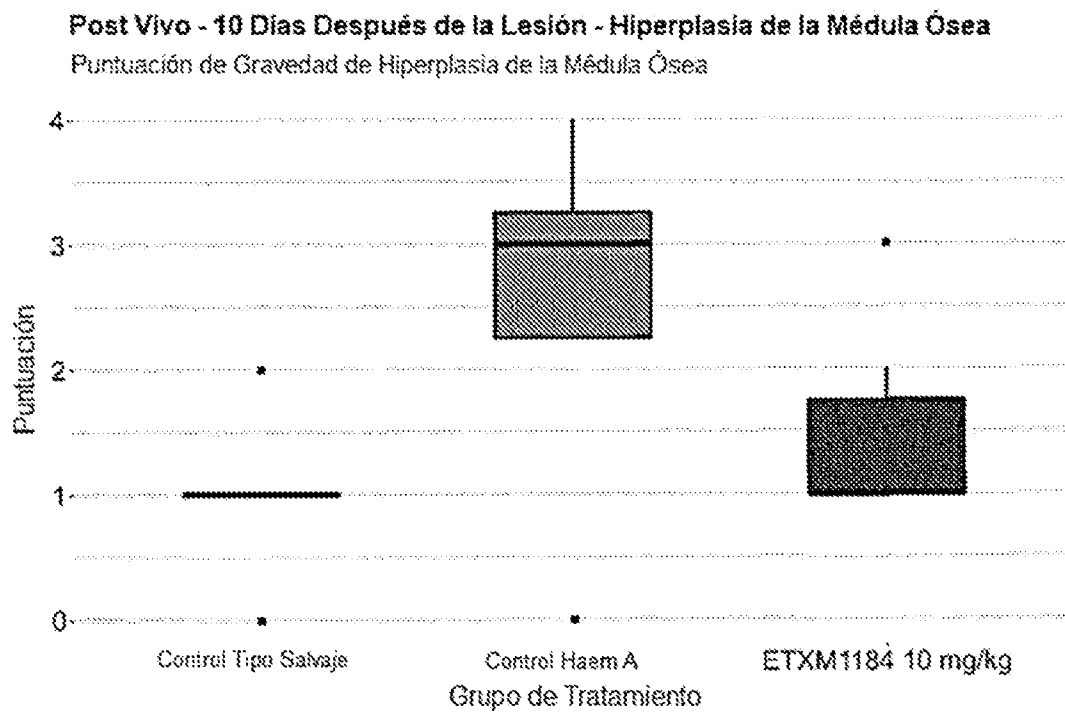


Figura 14B

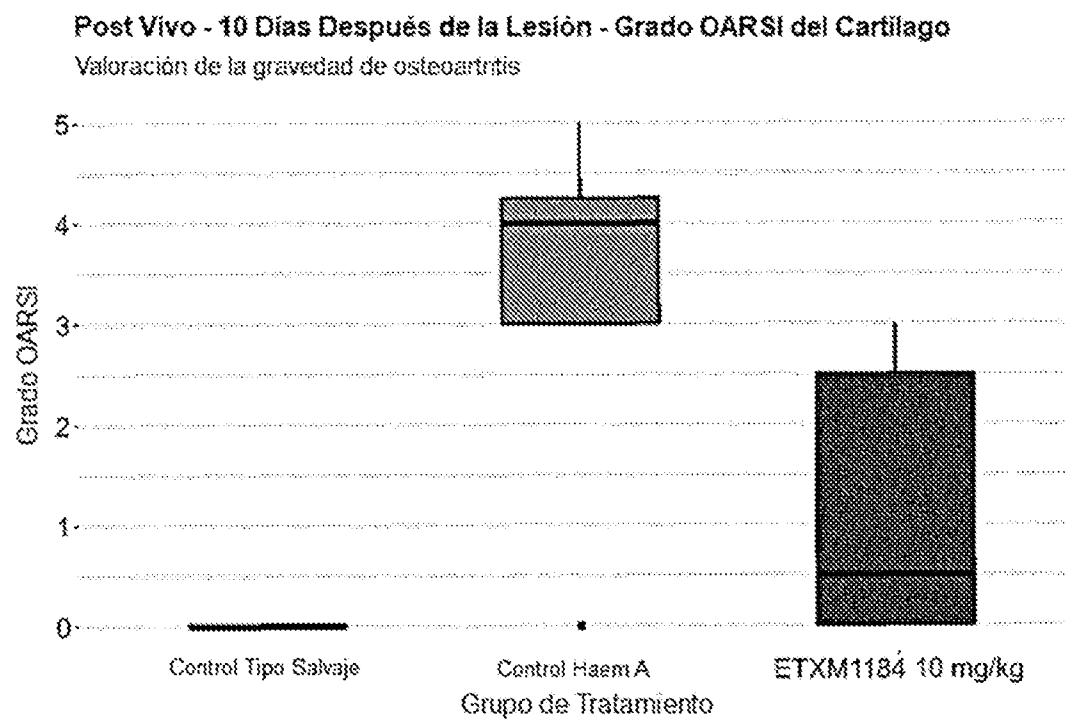


Figura 14C

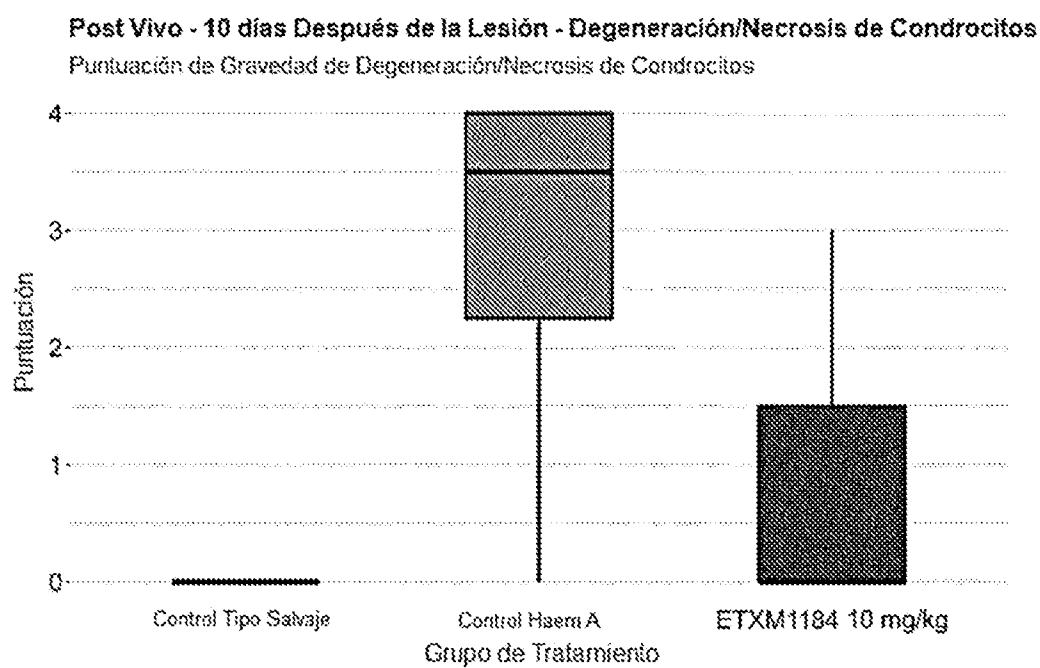


Figura 14D

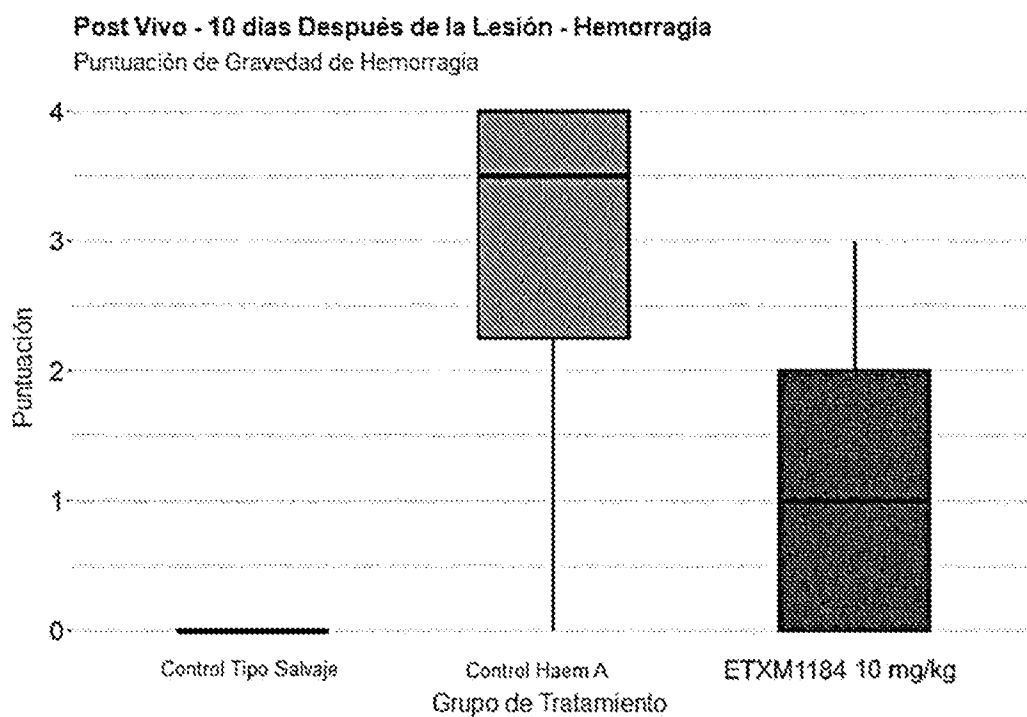


Figura 14E

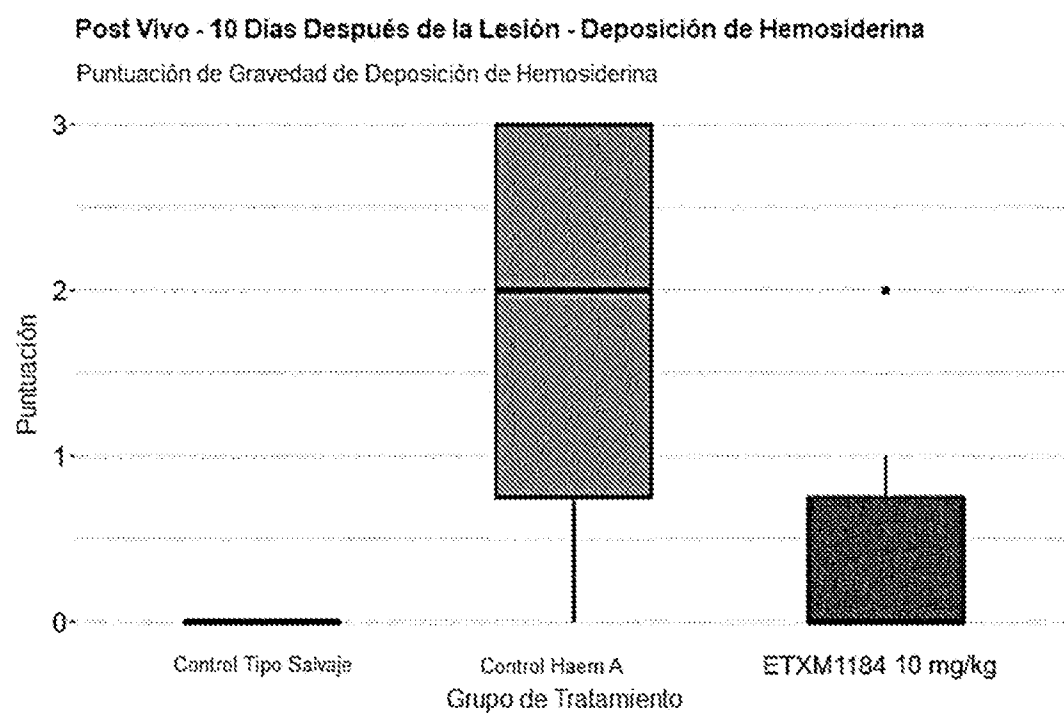


Figura 14F

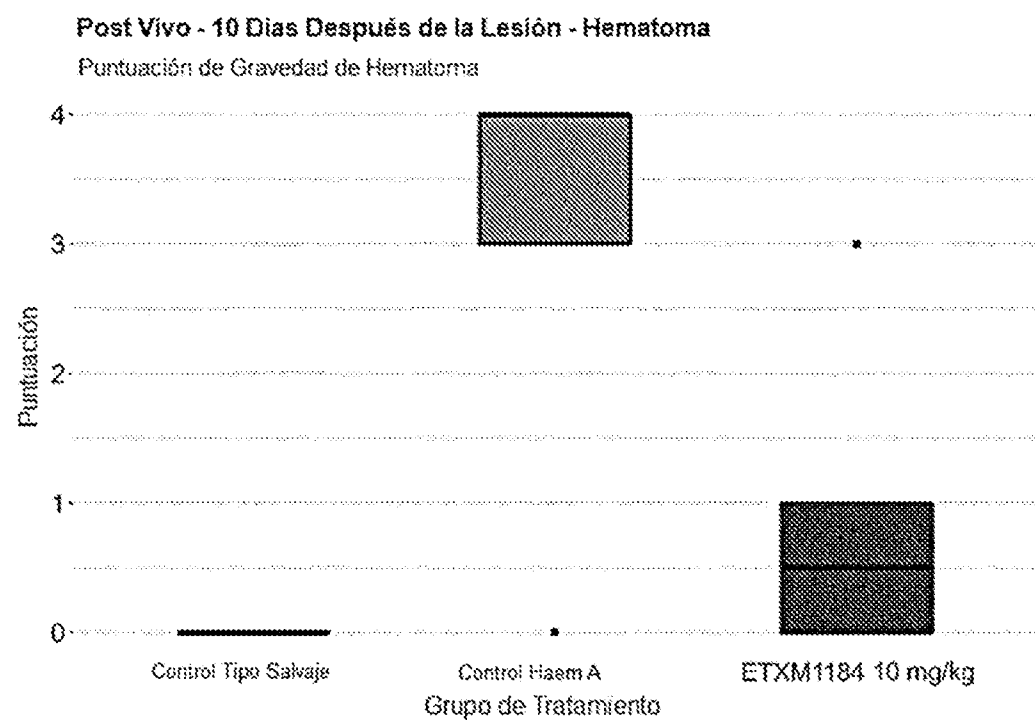


Figura 14G

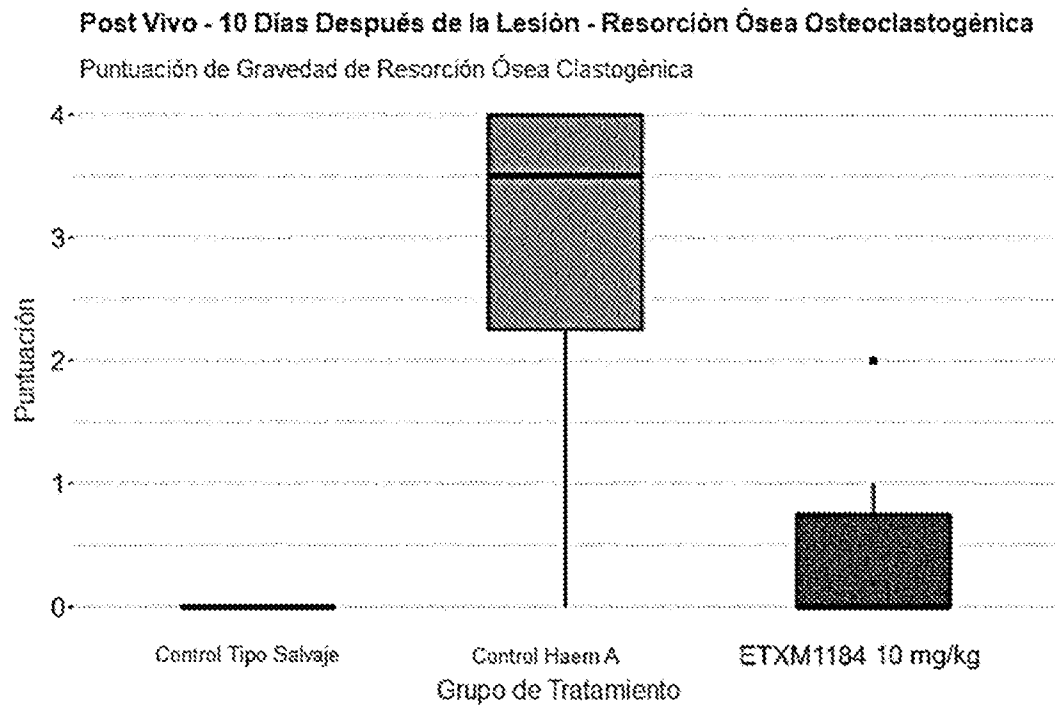


Figura 14H

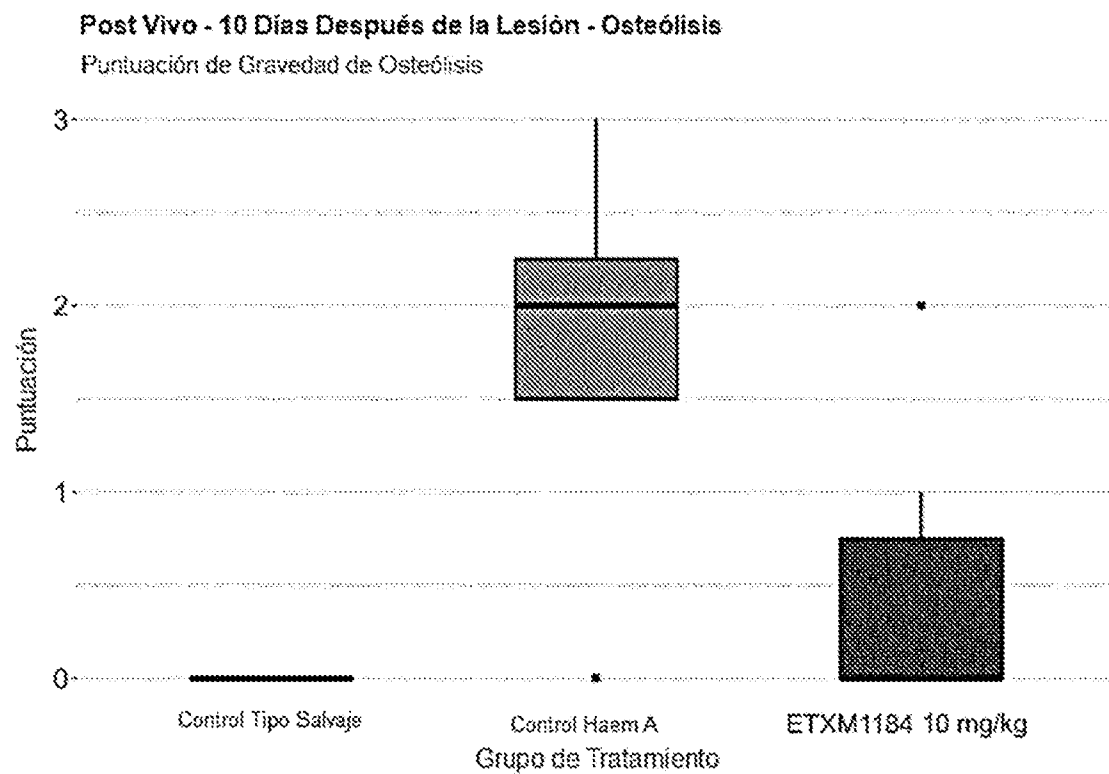


Figura 14I

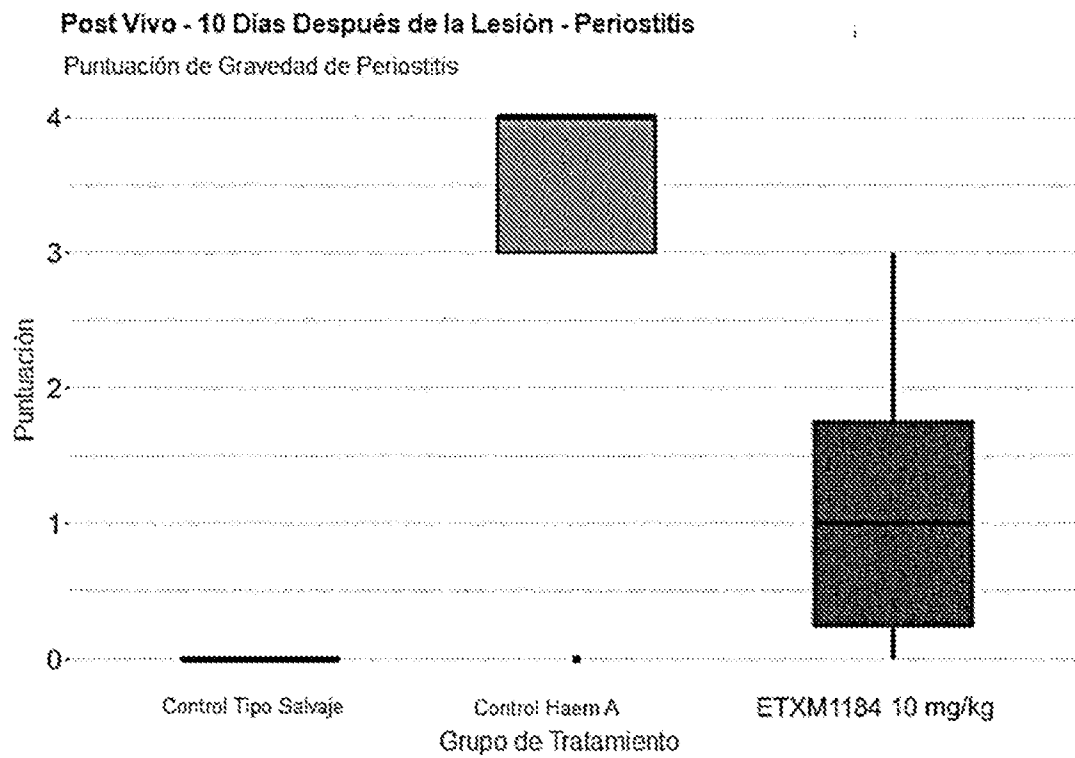


Figura 14J

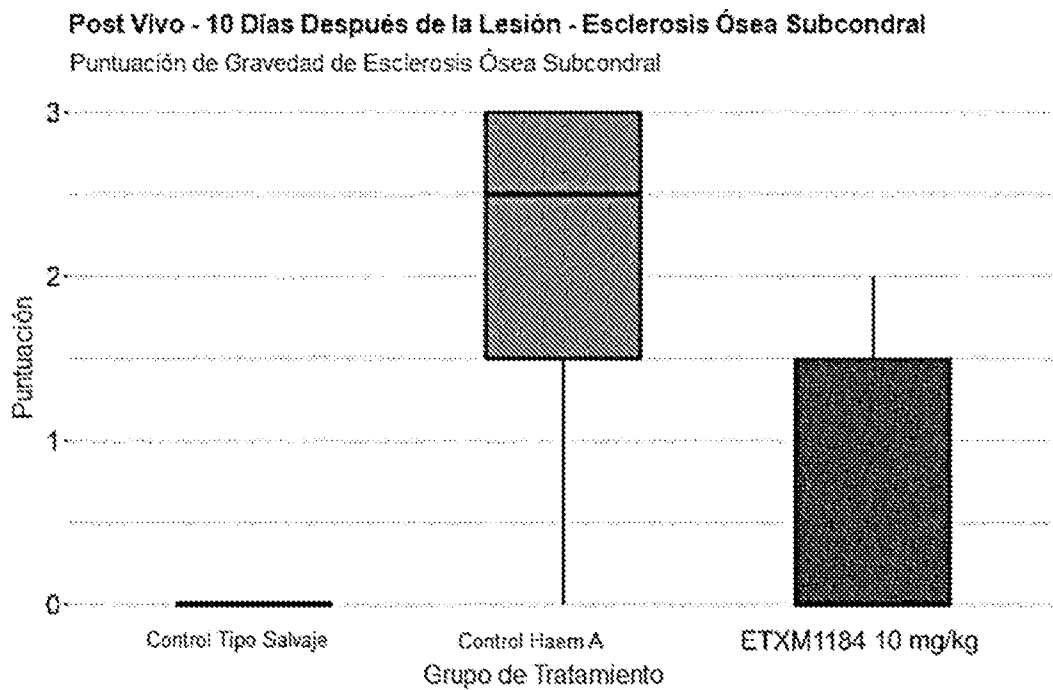


Figura 14K

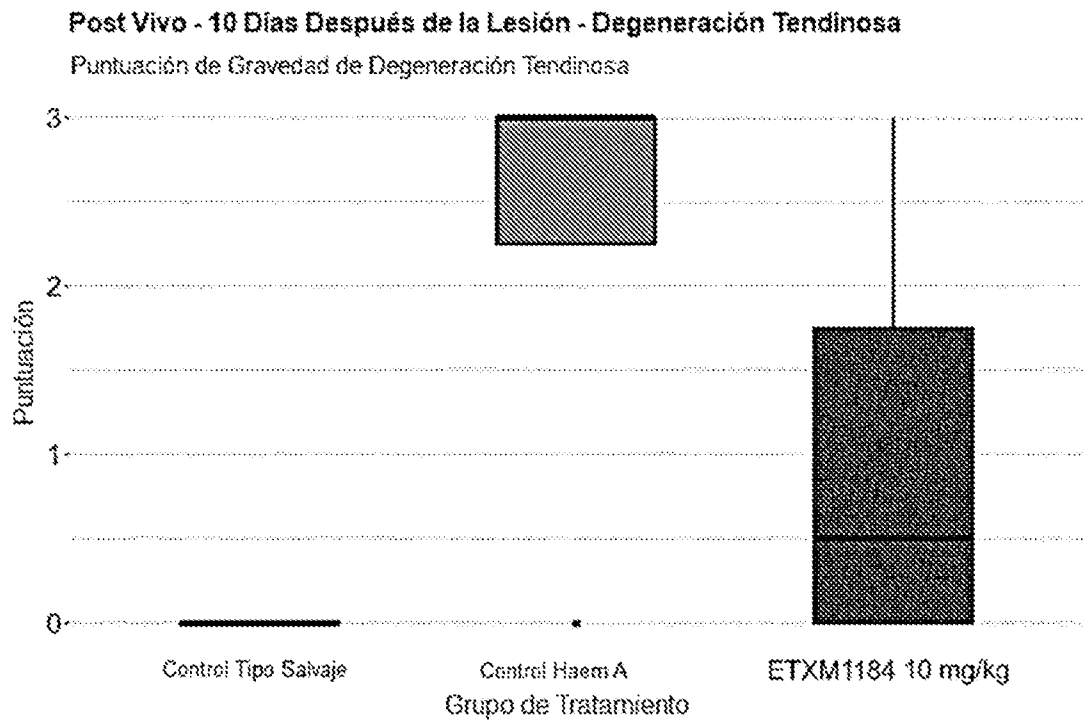


Figura 14L

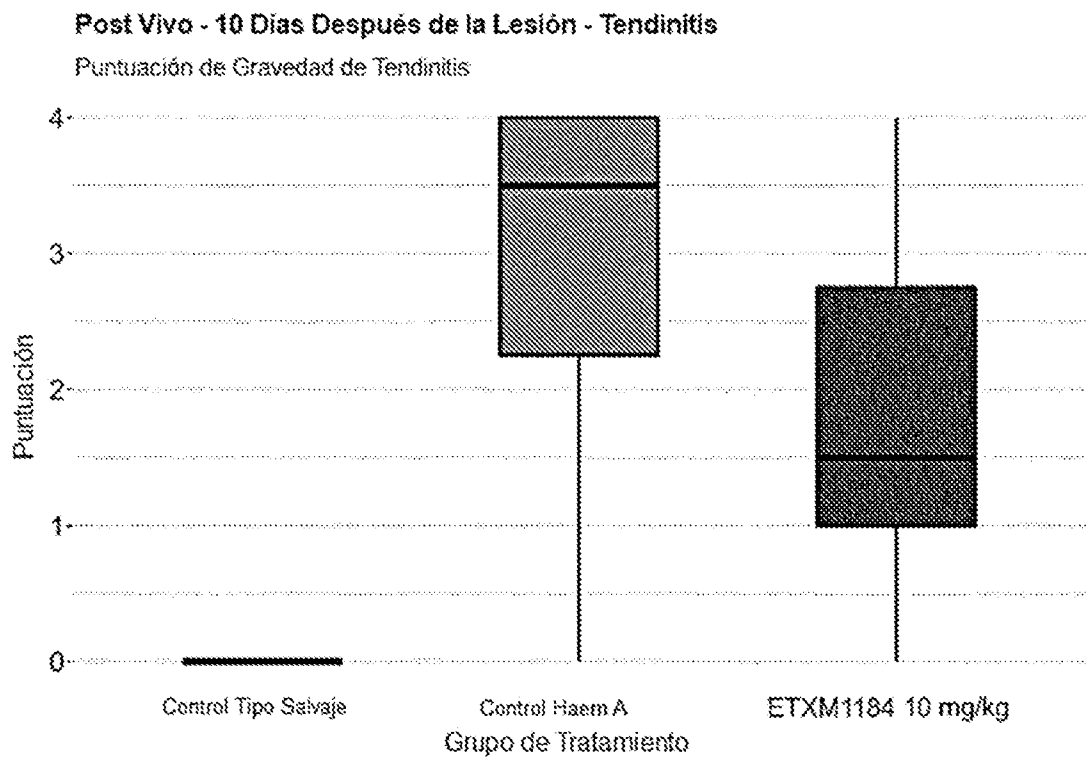


Figura 14M

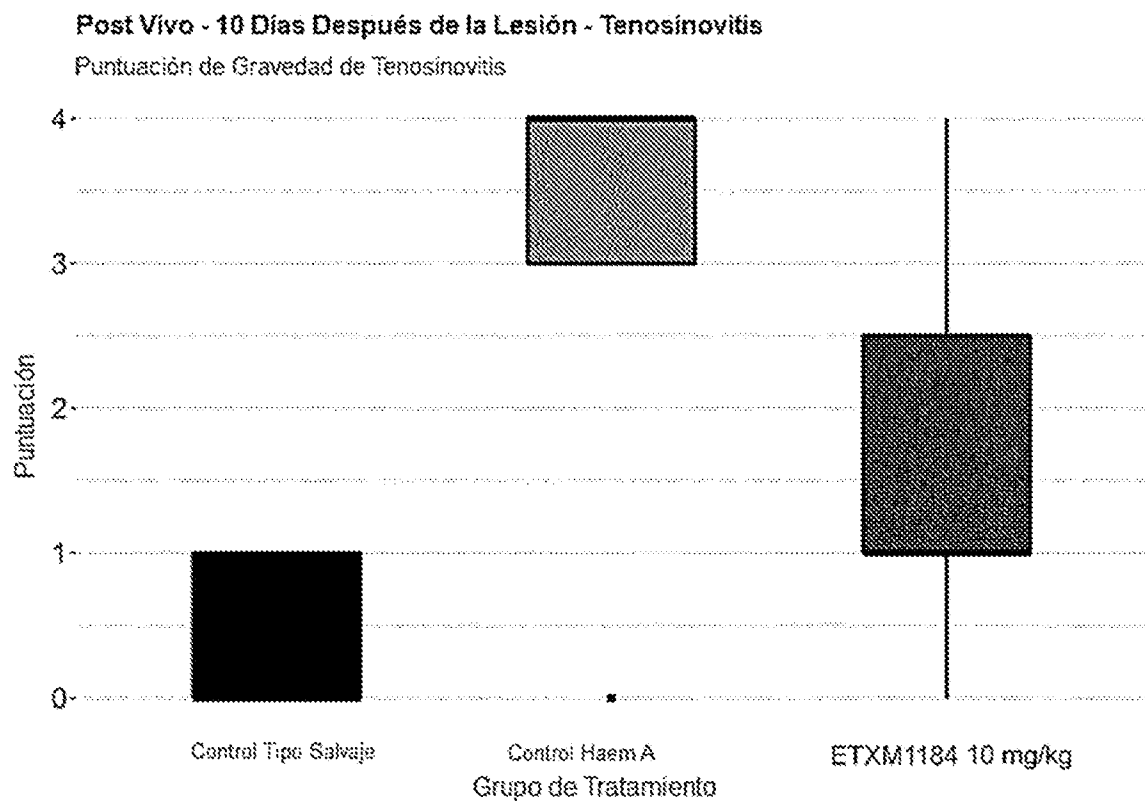


Figura 15

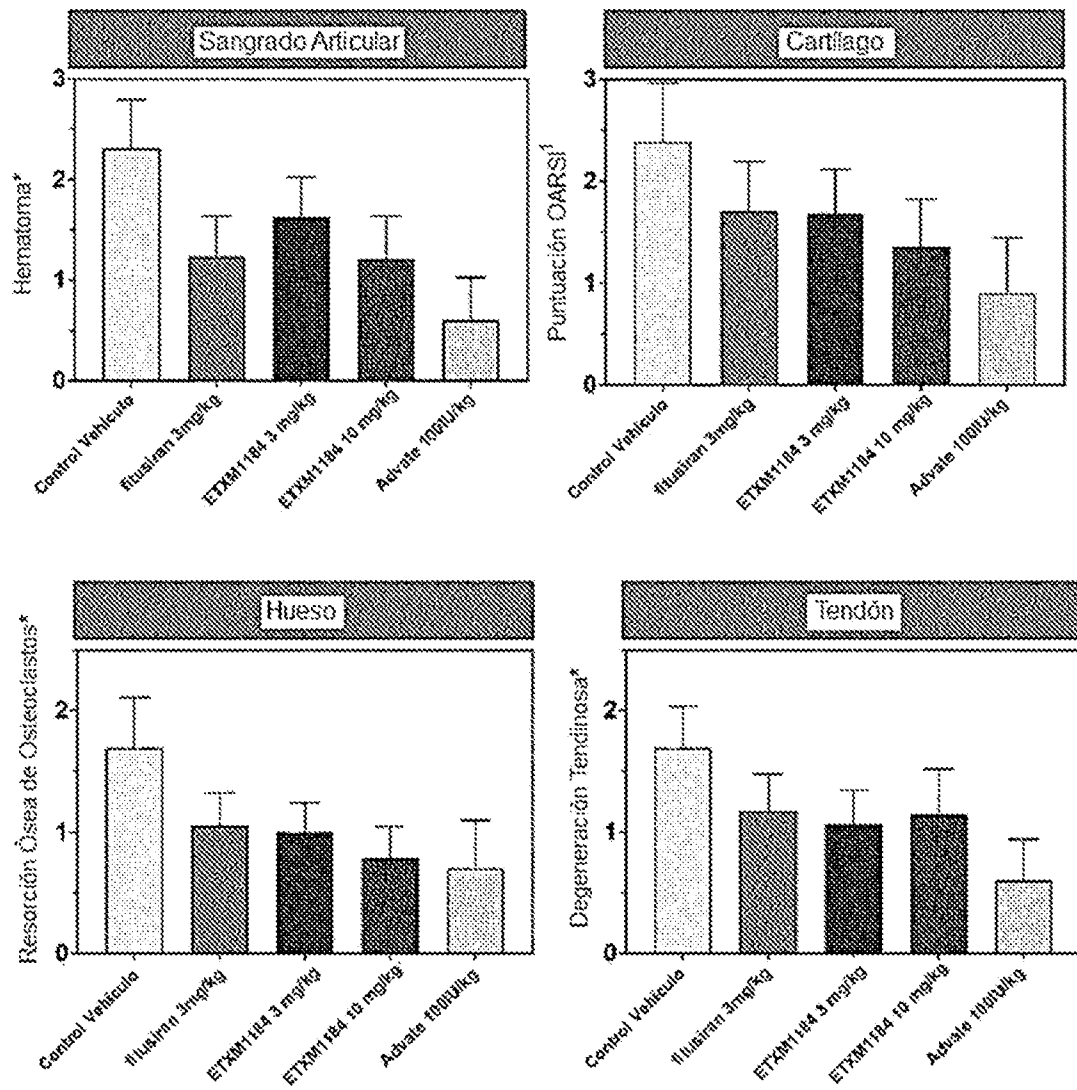


Figura 16

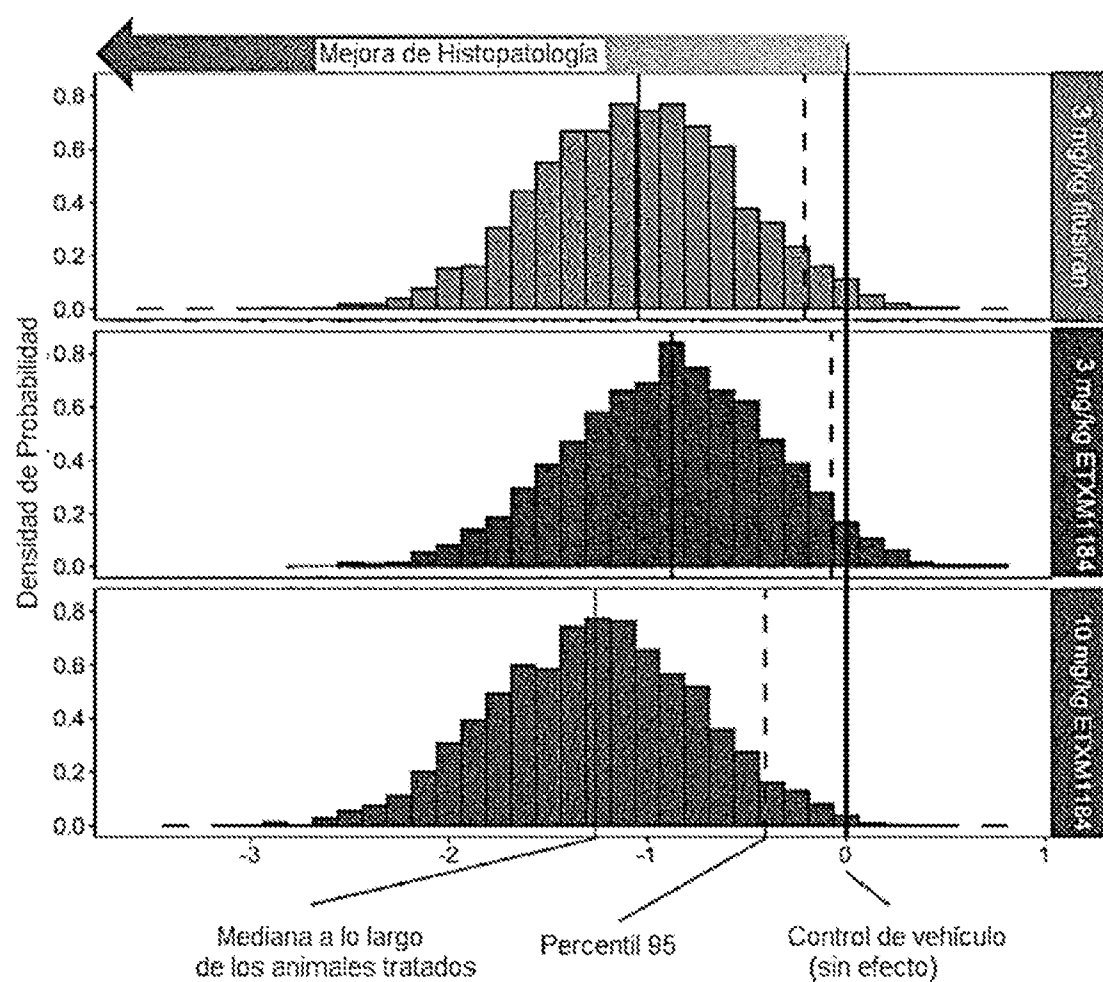


Figura 17

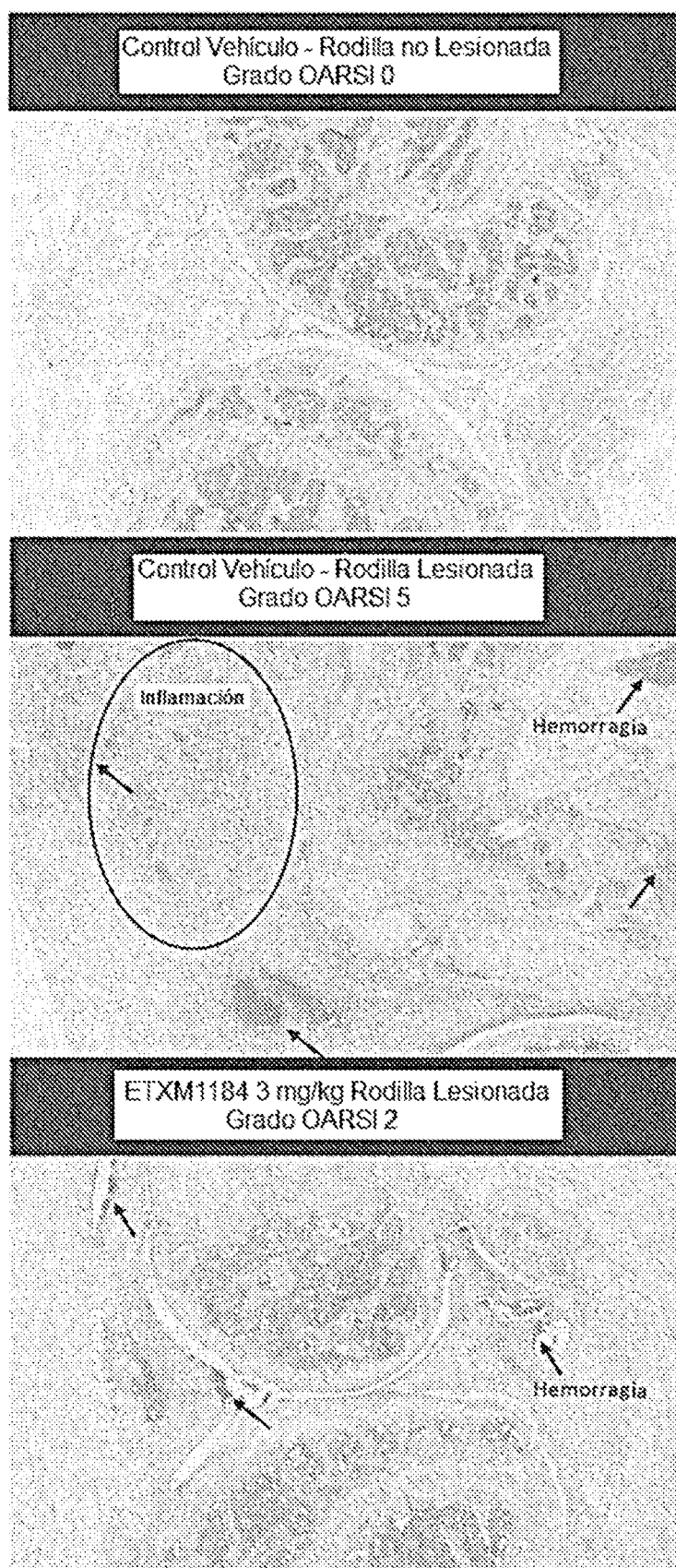


Figura 18

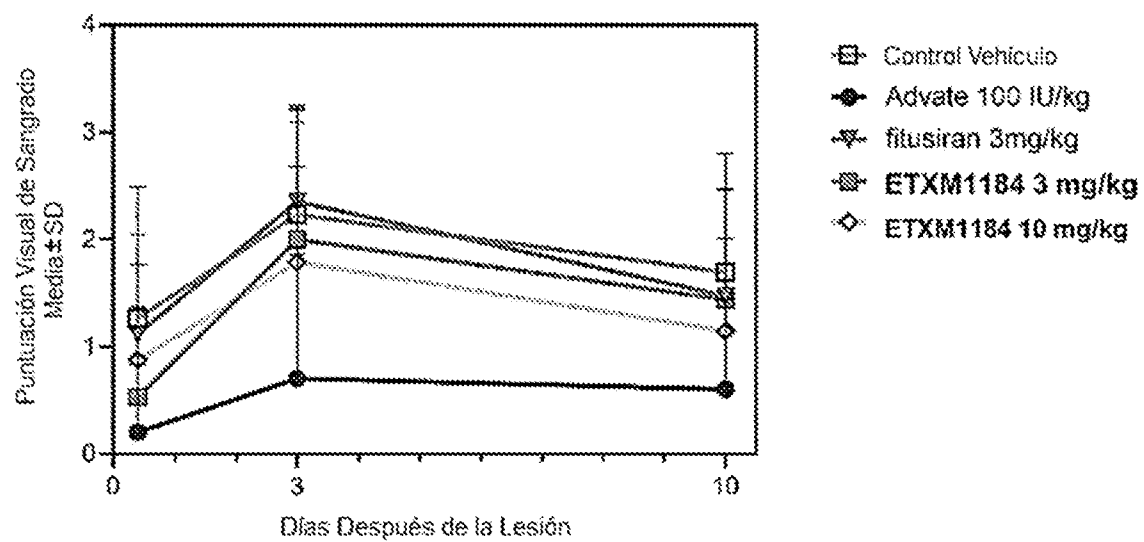


Figura 18 cont.

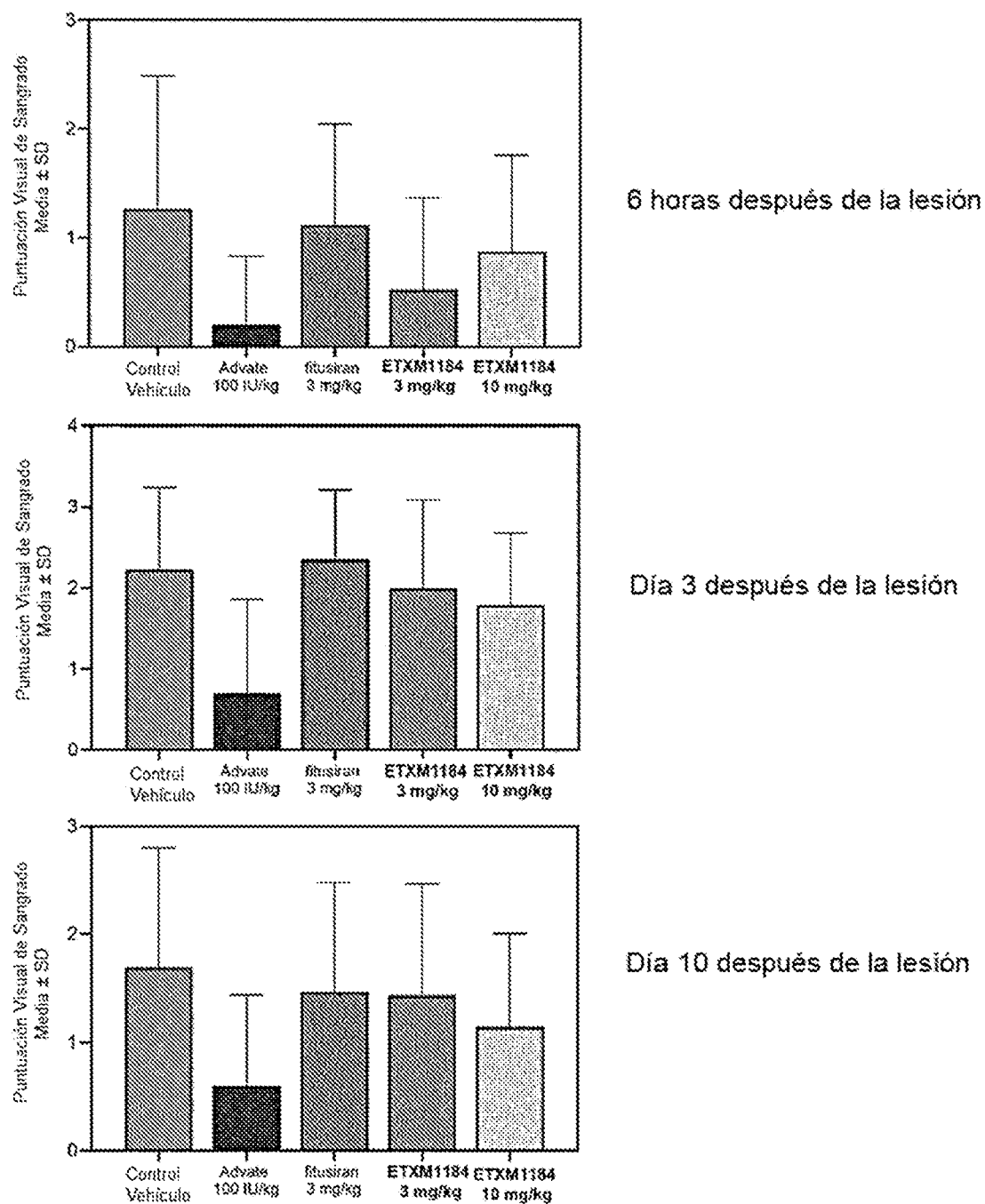


Figura 19

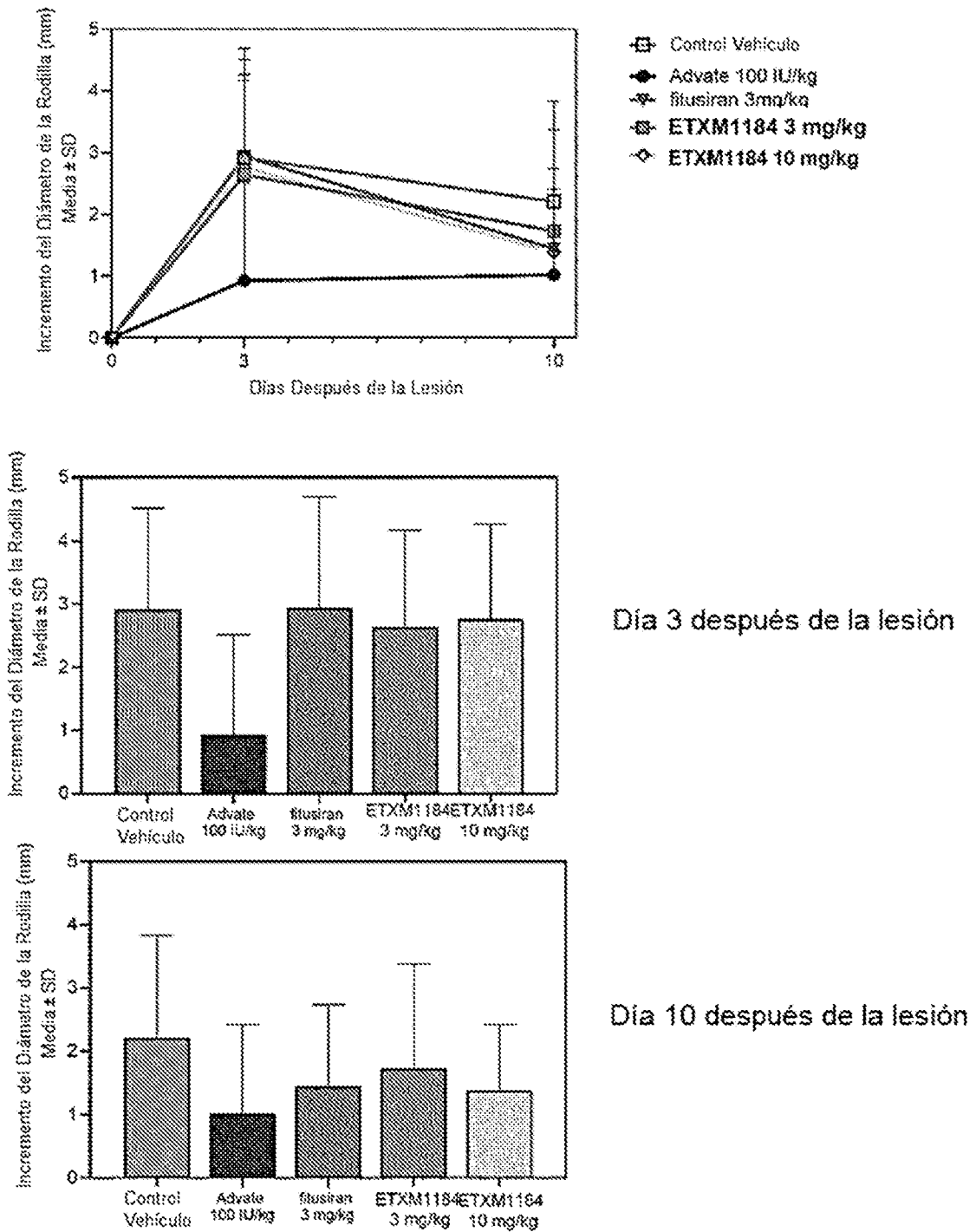


Figura 20

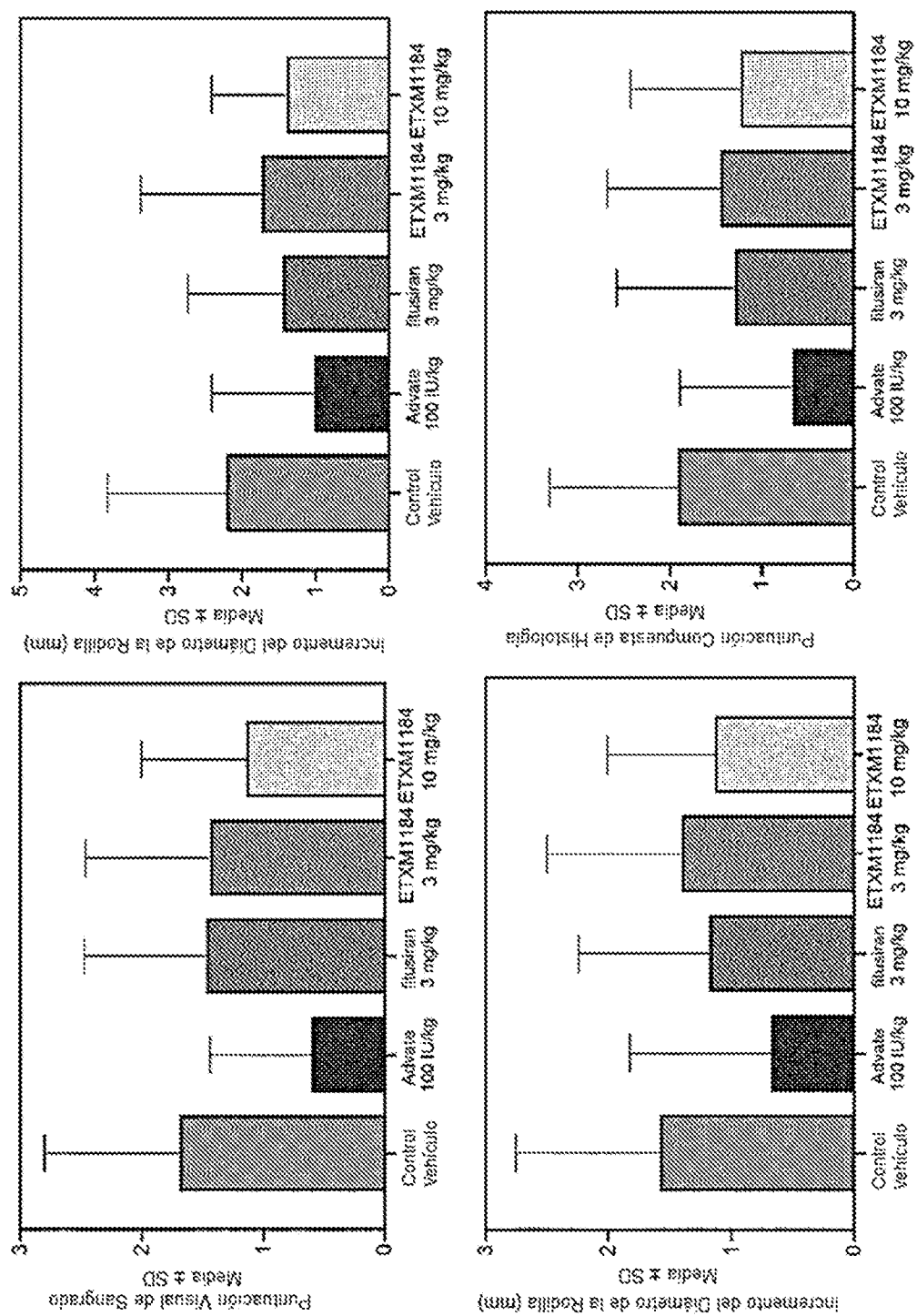


Figura 21

