

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 499**

51 Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)

C07H 21/00 (2006.01)

A61K 31/713 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2010 E 10836656 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 2509991**

54 Título: **Modulación de la expresión de HSP47**

30 Prioridad:

09.12.2009 US 285149 P

23.02.2010 US 307412 P

09.08.2010 US 372072 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.03.2016

73 Titular/es:

NITTO DENKO CORPORATION (100.0%)
1-2, Shimohozumi 1-chome
Ibaraki-shi, Osaka 567-8680, JP

72 Inventor/es:

JIN, XIAOMEI;
YU, LEI;
TAKAHASHI, HIROKAZU;
TANAKA, YASUNOBU;
NIITSU, YOSHIRO;
FEINSTEIN, ELENA;
AVKIN-NACHUM, SHARON;
KALINSKI, HAGAR;
METT, IGOR;
ERLICH, SHAI;
SQUIERS, ELIZABETH C. y
CHEN, NING

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 562 499 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

Modulación de la expresión de HSP47

5 SOLICITUDES DE PATENTE RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio de las solicitudes provisionales de EE.UU. nº de serie 61/372.072, presentada el 9 de agosto de 2010, 61/307.412, presentada el 23 de febrero de 2010 y 61/285.149, presentada el 9 de diciembre de 2009, tituladas cada una "Modulación de la expresión de HSP47".

10 LISTADO DE SECUENCIAS

La presente solicitud contiene un listado de secuencias que se titula 220-PCT1_ST25_07-Dec-10.txt, estando creada dicha copia ASCII el 7 de diciembre de 2010 y teniendo 533 kb de tamaño.

15 CAMPO DE LA INVENCION

Se proporcionan en la presente memoria composiciones y procedimientos para modular la expresión de hsp47.

20 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Sato, Y., *et al.* dan a conocer la administración de liposomas acoplados a vitamina A para suministrar ARN interferente pequeño (ARNip) contra gp46, el homólogo de rata de la proteína de choque térmico 47 humana, en modelos animales en rata de cirrosis hepática. Sato, Y., *et al.*, Nature Biotechnology, vol. 26 (4), pág. 431-442 (2008).

Chen, J-J., *et al.* dan a conocer la transfección de muestras de queloides humanos con ARNhp de HSP47 (ARN de horquilla pequeño) para examinar la proliferación de fibroblastos de queloides. Chen, J-J., *et al.*, British Journal of Dermatology, vol. 156, pág. 1188-1195 (2007).

La publicación de patente PCT nº WO 2006/068232 da a conocer un portador farmacológico específico de astrocitos que incluye un derivado retinoide y/o un análogo de vitamina A.

La actual invención se define, entre otros, mediante los siguientes apartados:

1. Una molécula de ácido nucleico bicatenaria que tiene la estructura (A2) expuesta a continuación:

(A2) 5' N¹-(N)x-Z 3' (hebra anticodificante)
3' Z'-N²-(N')y-z'' 5' (hebra codificante)

en la que cada uno de N², N y N' es un ribonucleótido no modificado o modificado o un resto no convencional;

en la que cada uno de (N)x y (N')y es un oligonucleótido en que cada N o N' consecutivo está unido al N o N' adyacente por un enlace covalente;

en la que cada uno de x e y es independientemente un entero entre 17 y 39;

en la que la secuencia de (N')y tiene complementariedad con la secuencia de (N)x y (N)x tiene complementariedad con una secuencia consecutiva en un ARNm de hsp47 (SEQ ID NO: 1);

en la que N¹ está unido covalentemente a (N)x y está desapareado con el ARNm de hsp47 o es un resto de ADN complementario del ARNm de hsp47;

en la que N¹ es un resto seleccionado del grupo consistente en uridina, desoxirribouridina, ribotimidina, desoxirribotimidina, adenosina o desoxiadenosina naturales o modificadas;

en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de N²-(N')y;

en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es independientemente 1-5 nucleótidos consecutivos, restos no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y

en la que la hebra anticodificante comprende una secuencia anticodificante de SEQ ID NO: 127.

2. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 1, en la que x= y= 18.

3. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de cualquiera de los apartados 1-2, en la que la hebra codificante y la hebra no codificante son el oligonucleótido descrito como SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127).

4. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 3, que tiene la estructura

5' UAUAGCACCCAUGUGUCUC -Z 3' (hebra anticodificante de SEQ ID NO: 127)
|||||
3' Z'-AUAUCGUGGGUACACAGAG - z'' 5' (hebra codificante de SEQ ID NO: 60)

en la que cada "I" representa un apareamiento de bases entre los ribonucleótidos;

en la que cada uno de A, C, G y U es independientemente un ribonucleótido no modificado o modificado o un resto no convencional;

en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es independientemente 1-5 nucleótidos o restos no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y

en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de la hebra codificante.

5. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 1, en la que la hebra codificante comprende adicionalmente Z' y en la que Z' incluye opcionalmente un resto C3OH o un resto C3Pi.

6. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 5, en la que cada uno de Z y/o Z' incluye dos restos alquilo ligados covalentemente con el extremo 3' de la hebra anticodificante o la hebra codificante a través de un ligamiento fosfodiéster o fosforioato y ligados covalentemente entre sí a través de un ligamiento fosfodiéster o fosforioato, y en la que opcionalmente Z' y/o Z' es C3Pi-C3Pi o C3Pi-C3OH.

7. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 3, en la que $x = y = 18$ y $N^1-(N)x$ comprende ribonucleótidos modificados con 2'-O-metil-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17.

8. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 4, en la que la hebra anticodificante comprende una o más pirimidinas y/o purinas modificadas con 2'-OMe-azúcar, un ribonucleótido 2'-5' en posición 5, 6, 7 u 8, y un saliente nucleotídico o no nucleotídico 3'-terminal.

9. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 4, en la que la hebra codificante comprende 4 o 5 nucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 3'-terminal o penúltima; un resto nucleotídico o no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'.

10. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 4, en la que z'' está presente y comprende un resto de caperuza conectado covalente con el extremo 5' de la hebra codificante, en la que el resto de caperuza se selecciona opcionalmente del grupo consistente en un resto de ribosa abásico, un resto de ribosa abásico invertido, un resto de desoxirribosa abásico invertido, un resto de desoxirribosa abásico y modificaciones de los mismos; C6-imino-Pi; un nucleótido espejo; 5'-OMe-nucleótido; 4',5'-metilenonucleótido; 1-(β-D-eritrofuranosil)nucleótido; 4'-tionucleótido, nucleótido carbocíclico; fosfato de 5'-aminoalquilo; fosfato de 1,3-diamino-2-propilo, fosfato de 3-aminopropilo, fosfato de 6-aminohexilo; fosfato de 12-aminododecilo; fosfato de hidroxipropilo, 1,5-anhidrohexitolnucleótido; α-nucleótido; treopentofuranosilnucleótido; 3',4'-seconucleótido acíclico; 3,4-dihidroxibutanolnucleótido; 3,5-dihidroxipentilnucleótido, resto abásico invertido 5'-5'; fosfato de 1,4-butanodiol; 5'-amino y restos metilfosfonato y 5'-mercapto de puente y no de puente.

11. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 1, en la que la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 127 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'-OMe-azúcar, un ribonucleótido 2'-5' en al menos una de las posiciones 1, 5, 6 o 7 y un resto no nucleotídico 3'-terminal conectado covalentemente con el extremo 3', y la hebra codificante es la SEQ ID NO: 60 e incluye al menos un ribonucleótido 2'-5' o ribonucleótido modificado con 2'-OMe, un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'.

12. La molécula de ácido nucleico bicatenaria del apartado 4, en la que la hebra anticodificante comprende ribonucleótidos modificados con 2'-O-metil-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en posición (5'>3') 7 y un resto no nucleotídico C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3', y en la que la hebra codificante comprende 5 ribonucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 3'-terminales (5'>3') 15, 16, 17, 18 y 19, un resto no nucleotídico C3Pi conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

13. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de cualquiera de los apartados 1-12 para uso en el tratamiento de un individuo que padece una enfermedad asociada a hsp47, en la que dicha enfermedad comprende opcionalmente fibrosis.

14. Una composición que comprende la molécula de ácido nucleico bicatenaria de cualquiera de los apartados 1-12 y un portador farmacéuticamente aceptable.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan en la presente memoria composiciones, procedimientos y kits para modular la expresión de genes diana. En diversos aspectos y realizaciones, las composiciones, procedimientos y kits proporcionados en la presente memoria modulan la expresión de la proteína de choque térmico 47 (hsp47), también conocida como SERPINH1. Las composiciones, procedimientos y kits pueden implicar el uso de moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, ácido

nucleico interferente corto (ANic), ARN interferente corto (ARNic), ARN bicatenario (ARNbc), microARN (miRNA) o ARN de horquilla corto (ARNhc)) que se unen a una secuencia nucleotídica (tal como una secuencia de ARNm) que codifica hsp47, por ejemplo la secuencia de codificación por ARNm de hsp47 humana ejemplificada por la SEQ ID NO: 1. En ciertas realizaciones preferidas, las composiciones, procedimientos y kits dados a conocer en la presente memoria inhiben la expresión de hsp47. Por ejemplo, se proporcionan moléculas de ANic (p.ej., moléculas de ANbc de longitud de RISC o moléculas de ANbc de longitud de Dicer) que reducen o inhiben la expresión de hsp47. Se proporcionan también composiciones, procedimientos y kits para tratar y/o prevenir enfermedades, afecciones o trastornos asociados a hsp47, tales como fibrosis quística, cirrosis, fibrosis pulmonar incluyendo fibrosis de pulmón (incluyendo FPI), fibrosis renal resultante de cualquier afección (p.ej., ERC incluyendo ERET), fibrosis peritoneal, daño hepático crónico, fibrillogénesis, enfermedades fibróticas en otros órganos, cicatrización anormal (queloides) asociada a todos los posibles tipos de lesión cutánea accidental y yatrogénica (por operaciones); escleroderma, cardiofibrosis, fracaso de operación de filtración de glaucoma y adhesiones intestinales.

En un aspecto, se proporcionan moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) en que (a) la molécula de ácido nucleico incluye una hebra codificante y una hebra anticodificante; (b) cada hebra de la molécula de ácido nucleico es independientemente de 15 a 49 nucleótidos de longitud; (c) una secuencia de 15 a 49 nucleótidos de la hebra anticodificante es complementaria de un ARNm que codifica hsp47 humana (p.ej., SEQ ID NO: 1) y (d) una secuencia de 15 a 49 nucleótidos de la hebra codificante es complementaria de una secuencia de la hebra anticodificante e incluye una secuencia de 15 a 49 nucleótidos de un ARNm que codifica hsp47 humana (p.ej., SEQ ID NO: 1).

En ciertas realizaciones, la secuencia de la hebra anticodificante que es complementaria de una secuencia de un ARNm que codifica hsp47 humana incluye una secuencia complementaria de una secuencia entre los nucleótidos 600-800 o 801-899 o 900-1000 o 1001-1300 de SEQ ID NO: 1; o entre los nucleótidos 650-730 o 900-975 de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la hebra anticodificante incluye una secuencia que es complementaria de una secuencia de un ARNm que codifica hsp47 humana correspondiente a los nucleótidos 674-693 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma; o a los nucleótidos 698-716 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma; o a los nucleótidos 698-722 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma; o a los nucleótidos 701-720 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma; o a los nucleótidos 920-939 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma; o a los nucleótidos 963-982 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma; o a los nucleótidos 947-972 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma; o a los nucleótidos 948-966 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma; o a los nucleótidos 945-969 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma o a los nucleótidos 945-963 de SEQ ID NO: 1 o una porción de la misma.

En ciertas realizaciones, la hebra anticodificante de la molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria incluye una secuencia correspondiente a la SEQ ID NO: 4 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 6 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 8 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 10 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 12 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 14 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 16 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 18 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 20 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 22 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 24 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 26 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 28 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 30 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 32 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 34 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 36 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 38 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 40 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 42 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 44 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 46 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 48 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 50 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 52 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 54 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 56 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 58 o una porción de la misma. En ciertas realizaciones, la hebra codificante de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria incluye una secuencia correspondiente a la SEQ ID NO: 3 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 5 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 7 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 9 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 11 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 13 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 15 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 17 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 19 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 21 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 23 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 25 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 27 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 29 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 31 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 33 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 35 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 37 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 39 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 41 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 43 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 45 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 47 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 49 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 51 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 53 o una porción de la misma; o la SEQ ID NO: 55 o una porción de la misma o la SEQ ID NO: 57 o una porción de la misma.

En ciertas realizaciones preferidas, la hebra anticodificante de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria incluye una secuencia correspondiente a una cualquiera de las secuencias anticodificantes mostradas en la Tabla A-19. En ciertas realizaciones preferidas, la hebra anticodificante y la hebra se seleccionan de los pares de secuencias mostrados en la Tabla A-19. En algunas

realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4, SERPINH1_12, SERPINH1_18, SERPINH1_30, SERPINH1_58 y SERPINH1_88. En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4 (SEQ ID NO: 195 y 220), SERPINH1_12 (SEQ ID NO: 196 y 221), SERPINH1_30 (SEQ ID NO: 199 y 224) y SERPINH1_58 (SEQ ID NO: 208 y 233).

En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria incluyen los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4 (SEQ ID NO: 195 y 220). En algunas realizaciones de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, se incluyen las hebras anticodificante y codificante de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_12 (SEQ ID NO: 196 y 221). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria incluyen los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_30 (SEQ ID NO: 199 y 224). En algunas realizaciones de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, se incluyen las hebras anticodificante y codificante de los pares de secuencia expuestos en SERPINH1_58 (SEQ ID NO: 208 y 233).

En ciertas realizaciones, la hebra anticodificante de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria incluye una secuencia correspondiente a una cualquiera de las secuencias anticodificantes mostradas en una cualquiera de las Tablas B o C.

En ciertas realizaciones preferidas, la hebra anticodificante de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria incluye una secuencia correspondiente a una cualquiera de las secuencias anticodificantes mostradas en la Tabla A-18. En ciertas realizaciones preferidas, la hebra anticodificante y la hebra se seleccionan de los pares de secuencias mostrados en la Tabla A-18. En algunas realizaciones de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, se incluyen las hebras anticodificante y codificante seleccionadas de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127), SERPINH1_6 (SEQ ID NO: 63 y 130), SERPINH1_11 (SEQ ID NO: 68 y 135), SERPINH1_13 (SEQ ID NO: 69 y 136), SERPINH1_45 (SEQ ID NO: 97 y 164), SERPINH1_45a (SEQ ID NO: 98 y 165), SERPINH1_51 (SEQ ID NO: 101 y 168), SERPINH1_52 (SEQ ID NO: 102 y 169) o SERPINH1_86 (SEQ ID NO: 123 y 190). En algunas realizaciones preferidas, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127), SERPINH1_6 (SEQ ID NO: 63 y 130), SERPINH1_45a (SEQ ID NO: 98 y 165) y SERPINH1_51 (SEQ ID NO: 101 y 168).

En algunas realizaciones preferidas de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, se incluyen las hebras anticodificante y codificante seleccionadas de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante incluyen los pares de secuencia expuestos en SERPINH1_6 (SEQ ID NO: 63 y 130). En algunas realizaciones de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, se incluyen las hebras anticodificante y codificante de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_11 (SEQ ID NO: 68 y 135). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_13 (SEQ ID NO: 69 y 136). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_45 (SEQ ID NO: 97 y 164). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_45a (SEQ ID NO: 98 y 165). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_51 (SEQ ID NO: 101 y 168).

En ciertas realizaciones, la hebra anticodificante de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se da a conocer en la presente memoria incluye una secuencia correspondiente a una cualquiera de las secuencias anticodificantes mostradas en una cualquiera de las Tablas D o E.

En diversas realizaciones de moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, la hebra anticodificante puede ser de 15 a 49 nucleótidos de longitud (p.ej., 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 o 49 nucleótidos de longitud); o de 17-35 nucleótidos de longitud; o de 17-30 nucleótidos de longitud; o de 15-25 nucleótidos de longitud; o de 18-25 nucleótidos de longitud; o de 18-23 nucleótidos de longitud; o de 19-21 nucleótidos de longitud; o de 25-30 nucleótidos de longitud; o de 26-28 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones de moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, la hebra anticodificante puede ser de 19 nucleótidos de longitud. De forma similar, la hebra codificante de moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se da a conocer en la presente memoria puede ser de 15 a 49 nucleótidos de longitud (p.ej., 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 o 49 nucleótidos de longitud); o de 17-35 nucleótidos de longitud; o de 17-30 nucleótidos de longitud; o de 15-25 nucleótidos de longitud; o de 18-25 nucleótidos de longitud; o de 18-23 nucleótidos de longitud; o de 19-21 nucleótidos de longitud; o de 25-30 nucleótidos de longitud; o de 26-28 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones de moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, la hebra codificante puede ser de 19 nucleótidos de longitud. En algunas

realizaciones de moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, la hebra anticodificante y la hebra codificante pueden ser de 19 nucleótidos de longitud. La región de dúplex de las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se da a conocer en la presente memoria puede ser de 15-49 nucleótidos de longitud (p.ej., aproximadamente 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 o 49 nucleótidos de longitud), 15-35 nucleótidos de longitud; o 15-30 nucleótidos de longitud; o de aproximadamente 15-25 nucleótidos de longitud; o 17-25 nucleótidos de longitud; o 17-23 nucleótidos de longitud; o 17-21 nucleótidos de longitud; o 25-30 nucleótidos de longitud o 25-28 nucleótidos de longitud. En diversas realizaciones de moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, la región de dúplex puede ser 19 nucleótidos de longitud.

En ciertas realizaciones, las hebras codificante y anticodificante de un ácido nucleico (p.ej., una molécula de ácido nucleico de ANic) como se proporciona en la presente memoria son hebras polinucleotídicas separadas. En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante separadas forman una estructura bicatenaria mediante enlace de hidrógeno, por ejemplo apareamiento de bases de Watson-Crick. En algunas realizaciones, las hebras codificante y anticodificante son dos hebras separadas que se ligan covalentemente entre sí. En otras realizaciones, las hebras codificante y anticodificante son parte de una sola hebra polinucleotídica que tiene tanto una región codificante como anticodificante; en algunas realizaciones preferidas, la hebra polinucleotídica tiene estructura de horquilla.

En ciertas realizaciones, la molécula de ácido nucleico (p.ej., molécula de ANic) es una molécula de ácido nucleico bicatenaria (ANbc) que es simétrica con respecto a los salientes y tiene un extremo romo en ambos extremos. En otras realizaciones, la molécula de ácido nucleico (p.ej., molécula de ANic) es una molécula de ANbc que es simétrica con respecto a los salientes y tiene un saliente en ambos extremos de la molécula de ANbc; preferiblemente la molécula tiene salientes de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleótidos; preferiblemente la molécula tiene salientes de 2 nucleótidos. En algunas realizaciones, los salientes son salientes 5'; en realizaciones alternativas, los salientes son salientes 3'. En ciertas realizaciones, los nucleótidos del saliente se modifican con modificaciones como se dan a conocer en la presente memoria. En algunas realizaciones, los nucleótidos de saliente son 2'-desoxinucleótidos.

En ciertas realizaciones preferidas, la molécula de ácido nucleico (p.ej., molécula de ANic) es una molécula de ANbc que es asimétrica con respecto a los salientes y tiene un extremo romo en un extremo de la molécula y un saliente en el otro extremo de la molécula. En ciertas realizaciones, el saliente es de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleótidos; preferiblemente el saliente es de 2 nucleótidos. En algunas realizaciones preferidas, una molécula de ANbc asimétrica tiene un saliente 3' (por ejemplo, un saliente 3' de 2 nucleótidos) en un lado de un dúplex que aparece en la hebra codificante y un extremo romo en el otro lado de la molécula. En algunas realizaciones preferidas, la molécula de ANbc asimétrica tiene un saliente 5' (por ejemplo, un saliente 5' de 2 nucleótidos) en un lado de un dúplex que aparece en la hebra codificante y un extremo romo en el otro lado de la molécula. En otras realizaciones preferidas, una molécula de ADNbc asimétrica tiene un saliente 3' (por ejemplo, un saliente 3' de 2 nucleótidos) en un lado de un dúplex que aparece en la hebra anticodificante y un extremo romo en el otro lado de la molécula. En algunas realizaciones preferidas, una molécula de ADNbc asimétrica tiene un saliente 5' (por ejemplo, un saliente 5' de 2 nucleótidos) en un lado de un dúplex que aparece en la hebra anticodificante y un extremo romo en el otro lado de la molécula. En ciertas realizaciones preferidas, los salientes son 2'-desoxinucleótidos.

En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico (p.ej., molécula de ANic) tiene una estructura de horquilla (que tiene la hebra codificante y hebra anticodificante en un polinucleótido) con una estructura de bucle en un extremo y un extremo romo en el otro extremo. En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico tiene una estructura de horquilla con una estructura de bucle en un extremo y un extremo saliente en el otro extremo (por ejemplo, un saliente de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleótidos); en ciertas realizaciones, el saliente es un saliente 3'; en ciertas realizaciones, el saliente es un saliente 5'; en ciertas realizaciones, el saliente está en la hebra codificante; en ciertas realizaciones, el saliente está en la hebra anticodificante.

En algunas realizaciones preferidas, la molécula de ácido nucleico se selecciona de las moléculas de ácido nucleico mostradas en la Tabla I.

Las moléculas de ácido nucleico (p.ej., molécula de ANic) dadas a conocer en la presente memoria pueden incluir una o más modificaciones o nucleótidos modificados tales como se describen en la presente memoria. Por ejemplo, una molécula de ácido nucleico (p.ej., molécula de ANic) como se proporciona en la presente memoria puede incluir un nucleótido modificado que tiene un azúcar modificado; un nucleótido modificado que tiene una nucleobase modificada o un nucleótido modificado que tiene un grupo fosfato modificado. De forma similar, una molécula de ácido nucleico (p.ej., molécula de ANic) como se proporciona en la presente memoria puede incluir un esqueleto de fosfodiéster modificado y/o puede incluir un grupo fosfato terminal modificado.

Las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se proporcionan pueden tener uno o más nucleótidos que incluyen un resto de azúcar modificado, por ejemplo como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones preferidas, el resto de azúcar modificado se selecciona del grupo consistente en 2'-O-metilo, 2'-metoxietoxilo, 2'-desoxilo, 2'-fluoro, 2'-alilo, 2'-O-[2-(metilamino)-2-oxoetilo], 4'-tio, puente 4'-(CH₂)₂-O-2', ácido nucleico 2'-bloqueado y 2'-O-(N-metilcarbamato).

Las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se proporcionan pueden tener una o más nucleobases modificadas, por ejemplo como se describe en la presente memoria, que pueden ser preferiblemente una seleccionada del grupo consistente en xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, derivados de 6-metilo y otros alquilicos de adenina y guanina, derivados de 2-propilo y otros alquilicos de adenina y guanina, 5-halogenouracilo y -citosina, 5-propiniluracilo y -citosina, 6-azouracilo, -citosina y -timina, 5-uracilo (seudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halogeno-, -amino-, -tiol-, -tioalquil-, -hidroxil- y otras adeninas y guaninas 8-sustituidas, 5-trifluorometil- y otros uracilos y citosinas 5-sustituidos, 7-metilguanina y aciclonucleótidos.

Las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se proporcionan pueden tener una o más modificaciones del esqueleto fosfodiéster, por ejemplo como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones preferidas, el enlace fosfodiéster se modifica sustituyendo el enlace fosfodiéster por un fosforotioato, 3'-(o -5')-desoxi-3'-(o -5')-tiofosforotioato, fosforoditioato, fosforoseleniados, 3'-(o -5')-desoxifosfinatos, boranofosfatos, 3'-(o -5')-desoxi-3'-(o -5')-aminofosforamidatos, hidrogenofosfonatos, ésteres de boranofosfato, fosforamidatos, alquil- o arilfosfonatos y fosfotriéster o ligamientos de fósforo.

En diversas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico proporcionadas (p.ej., moléculas de ANic) pueden incluir una o más modificaciones en la hebra codificante pero no en la hebra anticodificante. En algunas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico proporcionadas (p.ej., moléculas de ANic) incluyen una o más modificaciones en la hebra anticodificante pero no en la hebra codificante. En algunas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico proporcionadas (p.ej., moléculas de ANic) incluyen una o más modificaciones tanto en la hebra codificante como la hebra no codificante.

En algunas realizaciones en que las moléculas de ácido nucleico proporcionadas (p.ej., moléculas de ANic) tienen modificaciones, la hebra codificante incluye un patrón de nucleótidos modificados y no modificados alternados y/o la hebra anticodificante incluye un patrón de nucleótidos modificados y no modificados alternados; en algunas versiones preferidas de dichas realizaciones, la modificación es un resto de 2'-O-metil- (2'-metoxi-o 2'OMe)-azúcar. El patrón de nucleótidos modificados y no modificados alternados puede empezar con un nucleótido modificado en el extremo 5' o el extremo 3' de una de las hebras; por ejemplo el patrón de nucleótidos modificados y no modificados alternados puede empezar con un nucleótido modificado en el extremo 5 o extremo 3' de la hebra codificante y/o el patrón de nucleótidos modificados y no modificados alternados puede empezar con un nucleótido modificado en el extremo 5' o el extremo 3' de la hebra anticodificante. Cuando las dos hebras anticodificante y codificante incluyen un patrón de nucleótidos modificados alternados, el patrón de nucleótidos modificados puede configurarse de tal modo que los nucleótidos modificados en la hebra codificante estén enfrente de los nucleótidos modificados en la hebra anticodificante, o puede haber un desplazamiento de fase en el patrón de tal modo que los nucleótidos modificados de la hebra codificante estén enfrente de los nucleótidos no modificados en la hebra anticodificante y viceversa.

Las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se proporcionan en la presente memoria pueden incluir 1-3 (concretamente 1, 2 o 3) desoxinucleótidos en el extremo 3' de la hebra codificante y/o anticodificante.

Las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se proporcionan en la presente memoria pueden incluir un grupo fosfato en el extremo 5' de la hebra codificante y/o anticodificante.

En un aspecto, se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias que tienen la estructura (A1):

(A1) 5' (N)x-Z 3' (hebra anticodificante)
3' Z'-(N')y-z'' 5' (hebra codificante)

en la que cada uno de N y N' es un nucleótido que puede estar no modificado o modificado, o un resto no convencional;

en la que cada uno de (N)x y (N')y es un oligonucleótido en que cada N o N' consecutivo está unido al siguiente N o N' por un enlace covalente;

en la que cada Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente incluye independientemente 1-5 nucleótidos o restos no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente;

en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de (N')y;

en la que cada uno de x e y es independientemente un entero entre 18 y 40;

en la que la secuencia de (N')y tiene complementariedad con la secuencia de (N)x; y en la que (N)x incluye una secuencia anticodificante de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, (N)x incluye un oligonucleótido anticodificante presente en la Tabla A-19. En otras realizaciones, (N)x se selecciona de un oligonucleótido anticodificante presente en las Tablas B o C.

En algunas realizaciones, el enlace covalente que une cada N o N' consecutivo es un enlace fosfodiéster.

En algunas realizaciones, x= y cada uno de x e y es 19, 20, 21, 22 o 23. En diversas realizaciones, x= y= 19.

En algunas realizaciones de moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se da a conocer en la presente memoria, la molécula de ácido nucleico bicatenaria es un ARNic, ANic o miARN.

5 En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4 (SEQ ID NO: 195 y 220), SERPINH1_12 (SEQ ID NO: 196 y 221), SERPINH1_30 (SEQ ID NO: 199 y 224) y SERPINH1_58 (SEQ ID NO: 208 y 233).

10 En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4 (SEQ ID NO: 195 y 220). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_12 (SEQ ID NO: 196 y 221). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_30 (SEQ ID NO: 199 y 224). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_58 (SEQ ID NO: 208 y 233).

15 En algunas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico bicatenarias comprenden un resto de ADN o un desapareamiento con la diana en posición 1 de la hebra anticodificante (extremo 5'). Dicha estructura se describe en la presente memoria. Según una realización, se proporcionan moléculas de ácido nucleico modificadas que tienen la estructura (A2) expuesta a continuación:

20 (A2) 5' N¹-(N)x-Z 3' (hebra anticodificante)
3' Z'-N²-(N')y-z'' 5' (hebra codificante)

en la que cada uno de N¹, N y N' es un ribonucleótido no modificado o modificado o un resto no convencional; en la que cada uno de (N)x y (N')y es un oligonucleótido en que cada N o N' consecutivo está unido al N o N' adyacente por un enlace covalente;

en la que cada uno de x e y es independientemente un entero entre 17 y 39;

25 en la que la secuencia de (N')y tiene complementariedad con la secuencia de (N)x y (N)x tiene complementariedad con una secuencia consecutiva en un ARN diana;

en la que N¹ está unido covalentemente a (N)x y está desapareado con el ARN diana o es un resto de ADN complementario del ARN diana;

30 en la que N¹ es un resto seleccionado del grupo consistente en uridina, desoxirribouridina, ribotimidina, desoxirribotimidina, adenosina o desoxiadenosina naturales o modificadas;

en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de N²-(N')y; y

35 en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero sin está presente es independientemente 1-5 nucleótidos consecutivos, restos no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente.

40 En algunas realizaciones, la secuencia de (N')y es totalmente complementaria de la secuencia de (N)x. En diversas realizaciones, la secuencia de N²-(N')y es complementaria de la secuencia de N¹-(N)x. En algunas realizaciones, (N)x comprende una anticodificante que es totalmente complementaria de aproximadamente 17 a aproximadamente 39 nucleótidos consecutivos en un ARN diana. En otras realizaciones, (N)x comprende una anticodificante que es sustancialmente complementaria de aproximadamente 17 a aproximadamente 39 nucleótidos consecutivos en un ARN diana.

45 En algunas realizaciones, N¹ y N² forman un par de bases de Watson-Crick. En algunas realizaciones, N¹ y N² forman un par de bases no de Watson-Crick. En algunas realizaciones, el par de bases se forma entre un ribonucleótido y un desoxirribonucleótido.

50 En algunas realizaciones, x= y= 18, x= y= 19 o x= y= 20. En realizaciones preferidas, x= y= 18. Cuando x= 18 en N¹-(N)x, N¹ hace referencia a la posición 1 y las posiciones 2-19 están incluidas en (N)₁₈. Cuando y= 18 en N²-(N')y, N² hace referencia a la posición 19 y las posiciones 1-18 están incluidas en (N')₁₈.

En algunas realizaciones, N¹ está unido covalentemente a (N)x y está desapareado con el ARN diana. En diversas realizaciones, N¹ está unido covalentemente a (N)x y es un resto de ADN complementario del ARN diana.

55 En algunas realizaciones, se sustituye una uridina en posición 1 de la hebra anticodificante por un N¹ seleccionado de adenosina, desoxiadenosina, desoxiuridina (dU), ribotimidina o desoxitimidina. En diversas realizaciones, N¹ se selecciona de adenosina, desoxiadenosina o desoxiuridina.

60 En algunas realizaciones, se sustituye una guanosina en posición 1 de la hebra anticodificante por un N¹ seleccionado de adenosina, desoxiadenosina, uridina, desoxiuridina, ribotimidina o desoxitimidina. En diversas realizaciones, N¹ se selecciona de adenosina, desoxiadenosina, uridina o desoxiuridina.

65 En algunas realizaciones, se sustituye una citidina en posición 1 de la hebra anticodificante por un N¹ seleccionado de adenosina, desoxiadenosina, uridina, desoxiuridina, ribotimidina o desoxitimidina. En diversas realizaciones, N¹ se selecciona de adenosina, desoxiadenosina, uridina o desoxiuridina.

En algunas realizaciones, se sustituye una adenosina en posición 1 de la hebra anticodificante por un N¹ seleccionado de desoxiadenosina, desoxiuridina, ribotimidina o desoxitimidina. En diversas realizaciones, N¹ se selecciona de desoxiadenosina o desoxiuridina.

- 5 En algunas realizaciones, N¹ y N² forman un par de bases entre uridina o desoxiuridina y adenosina o desoxiadenosina. En otras realizaciones, N¹ y N² forman un par de bases entre desoxiuridina y adenosina.

En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico bicatenaria es un ARN_{Nic}, AN_{Nic} o miARN. Se hace también referencia en la presente memoria a las moléculas de ácido nucleico bicatenarias como se proporcionan en la presente memoria como “dúplex”.

En algunas realizaciones, (N)_x incluye un oligonucleótido anticodificante presente en la Tabla A-18. En algunas realizaciones, x= y= 18 y N¹-(N)_x incluye un oligonucleótido anticodificante presente en la Tabla A-18. En algunas realizaciones, x= y= 19 o x= y= 20. En ciertas realizaciones preferidas, x= y= 18. En algunas realizaciones, x= y-18 y las secuencias de N¹-(N)_x y N²-(N')_y se seleccionan del par de oligonucleótidos expuesto en la Tabla A-18. En algunas realizaciones, x= y-18 y las secuencias de N¹-(N)_x y N²-(N')_y se seleccionan del par de oligonucleótidos expuestos en las Tablas D y E. En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127), SERPINH1_6 (SEQ ID NO: 63 y 130), SERPINH1_11 (SEQ ID NO: 68 y 135), SERPINH1_13 (SEQ ID NO: 69 y 136), SERPINH1_45 (SEQ ID NO: 97 y 164), SERPINH1_45a (SEQ ID NO: 98 y 165), SERPINH1_51 (SEQ ID NO: 101 y 168), SERPINH1_51a (SEQ ID NO: 105 y 172), SERPINH1_52 (SEQ ID NO: 102 y 169) o SERPINH1_86 (SEQ ID NO: 123 y 190). En algunas realizaciones preferidas, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127), SERPINH1_6 (SEQ ID NO: 63 y 130), SERPINH1_45a (SEQ ID NO: 98 y 165), SERPINH1_51 (SEQ ID NO: 101 y 168) y SERPINH1_51a (SEQ ID NO: 105 y 172).

En algunas realizaciones preferidas, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_6 (SEQ ID NO: 63 y 130). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_11 (SEQ ID NO: 68 y 135). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_13 (SEQ ID NO: 69 y 136). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_45 (SEQ ID NO: 97 y 164). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_45a (SEQ ID NO: 98 y 165). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_51 (SEQ ID NO: 101 y 168). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_51a (SEQ ID NO: 105 y 172). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_52 (SEQ ID NO: 102 y 169). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante son los pares de secuencias expuestos en (SEQ ID NO: 123 y 190). En algunas realizaciones preferidas, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127), SERPINH1_6 (SEQ ID NO: 63 y 130), SERPINH1_45a (SEQ ID NO: 98 y 165), SERPINH1_51 (SEQ ID NO: 101 y 168) y SERPINH1_51a (SEQ ID NO: 105 y 172).

En algunas realizaciones, N¹ y N² forman un par de bases de Watson-Crick. En otras realizaciones, N¹ y N² forman un par de bases no de Watson-Crick. En algunas realizaciones, N¹ es una riboadenosina modificada o una ribouridina modificada.

En algunas realizaciones, N¹ y N² forman un par de bases de Watson-Crick. En otras realizaciones, N¹ y N² forman un par de bases no de Watson-Crick. En ciertas realizaciones, N¹ se selecciona del grupo consistente en riboadenosina, riboadenosina modificada, desoxirriboadenosina y desoxirriboadenosina modificada. En otras realizaciones, N¹ se selecciona del grupo consistente en ribouridina, desoxirriboouridina, ribouridina modificada y desoxirriboouridina modificada.

En ciertas realizaciones, la posición 1 de la hebra anticodificante (extremo 5') incluye desoxirriboouridina (dU) o adenosina. En algunas realizaciones, N¹ se selecciona del grupo consistente en riboadenosina, riboadenosina modificada, desoxirriboadenosina, desoxirriboadenosina modificada y N² se selecciona del grupo consistente en ribouridina, desoxirriboouridina, ribouridina modificada y desoxirriboouridina modificada. En ciertas realizaciones, N¹ se selecciona del grupo consistente en riboadenosina y riboadenosina modificada y N² se selecciona del grupo consistente en ribouridina y ribouridina modificada.

En ciertas realizaciones, N¹ se selecciona del grupo consistente en ribouridina, desoxirriboouridina, ribouridina modificada y desoxirriboouridina modificada y N² se selecciona del grupo consistente en riboadenosina, riboadenosina modificada, desoxirriboadenosina y desoxirriboadenosina modificada. En ciertas realizaciones, N¹ se selecciona del grupo consistente en ribouridina y desoxirriboouridina y N² se selecciona del grupo consistente en riboadenosina y riboadenosina modificada. En ciertas realizaciones, N¹ es ribouridina y N² es riboadenosina. En ciertas realizaciones, N¹ es desoxirriboouridina y N² es riboadenosina.

En algunas realizaciones de la estructura (A2), N¹ incluye ribouracilo modificado con 2'OMe-azúcar o riboadenosina modificada con 2'OMe-azúcar. En ciertas realizaciones de la estructura (A), N² incluye un ribonucleótido o desoxirribonucleótido modificado con 2'OMe-azúcar.

5 En algunas realizaciones de la estructura (A2), N¹ incluye ribouracilo modificado con 2'OMe-azúcar o ribocitosina modificada con 2'OMe-azúcar. En ciertas realizaciones de la estructura (A), N² incluye un ribonucleótido modificado con 2'OMe-azúcar.

10 En algunas realizaciones, cada uno de N y N' es un nucleótido no modificado. En algunas realizaciones, al menos uno de N o N' incluye un nucleótido químicamente modificado o un resto no convencional. En algunas realizaciones, el resto no convencional se selecciona de un nucleótido espejo, un resto de ribosa abásico y un resto de desoxirribosa abásico. En algunas realizaciones, el resto no convencional es un nucleótido espejo, preferiblemente un resto de L-ADN. En algunas realizaciones, al menos uno de N o N' incluye un ribonucleótido modificado con 2'OMe-azúcar.

15 En algunas realizaciones, la secuencia de (N')y es totalmente complementaria de la secuencia de (N)x. En otras realizaciones, la secuencia de (N')y es sustancialmente complementaria de la secuencia de (N)x.

20 En algunas realizaciones, (N)x incluye una secuencia anticodificante que es totalmente complementaria de aproximadamente 17 a aproximadamente 39 nucleótidos consecutivos en un ARNm diana. En otras realizaciones, (N)x incluye una anticodificante que es sustancialmente complementaria de aproximadamente 17 a aproximadamente 39 nucleótidos consecutivos en el ARNm diana.

25 En algunas realizaciones de la estructura A1 y la estructura A2, el compuesto tiene extremos romos, por ejemplo en la que ambos Z y Z' están ausentes. En una realización alternativa, está presente al menos uno de Z o Z'. Z y Z' incluyen independientemente uno o más nucleótidos ligados covalentemente modificados y/o no modificados, incluyendo desoxirribonucleótidos y ribonucleótidos, o un resto no convencional, por ejemplo un resto de desoxirribosa abásico invertido o un resto de ribosa abásico; un resto C3, C4 o C5 no nucleotídico, un resto 6-amino, un nucleótido espejo y similares. En algunas realizaciones, cada uno de Z y Z' incluye independientemente un resto C3 o un resto amino-C6. En algunas realizaciones, Z' está ausente y Z está presente e incluye un resto C3 no nucleotídico. En algunas realizaciones, Z está ausente y Z' está presente e incluye un resto C3 no nucleotídico.

35 En algunas realizaciones de la estructura A1 y la estructura A2, cada N consiste en un ribonucleótido no modificado. En algunas realizaciones de la estructura A1 y la estructura A2, cada N' consiste en un nucleótido no modificado. En realizaciones preferidas, al menos uno de N y N' es un ribonucleótido modificado o un resto no convencional.

40 En otras realizaciones, el compuesto de la estructura A1 o la estructura A2 incluye al menos un ribonucleótido modificado en el residuo de azúcar. En algunas realizaciones, el compuesto incluye una modificación en la posición 2' del residuo de azúcar. En algunas realizaciones, la modificación en la posición 2' incluye la presencia de un resto amino, fluoro, alcoxilo o alquilo. En ciertas realizaciones, la modificación en 2' incluye un resto alcoxilo. En realizaciones preferidas, el resto alcoxilo es un resto metoxilo (también conocido como 2'-O-metilo; 2'OMe; 2'-OCH₃). En algunas realizaciones, el compuesto de ácido nucleico incluye ribonucleótidos alternados modificados con 2'OMe-azúcar en una o ambas de las hebras anticodificante y codificante. En otras realizaciones, el compuesto incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en la hebra anticodificante, (N)x o N¹-(N)x, solo. En ciertas realizaciones, el ribonucleótido intermedio de la hebra anticodificante, p.ej. el ribonucleótido en posición 10 en un oligómero de 19 unidades, no está modificado. En diversas realizaciones, el compuesto de ácido nucleico incluye al menos 5 ribonucleótidos alternados modificados con 2'OMe y no modificados. En realizaciones adicionales, el compuesto de la estructura A1 o la estructura A2 incluye ribonucleótidos modificados en posiciones alternadas en las que cada ribonucleótido en los extremos 5' y 3' de (N)x o N¹-(N)x está modificado en sus residuos de azúcar y cada ribonucleótido en los extremos 5' y 3 de (N')y o N²-(N)y está no modificado en los residuos de azúcar.

En algunas realizaciones, la molécula bicatenaria incluye una o más de las siguientes modificaciones:

- 55 a) N en al menos una de las posiciones 5, 6, 7, 8 o 9 desde el extremo 5' de la hebra anticodificante se selecciona de un nucleótido 2'-5' o un nucleótido espejo;
 b) N' en al menos una de las posiciones 9 o 10 desde el extremo 5' de la hebra codificante se selecciona de un nucleótido 2'-5' y una pseudouridina; y
 c) N' en 4, 5 o 6 posiciones consecutivas en las posiciones 3'-terminales de (N')y comprende un nucleótido 2'-5'.

60 En algunas realizaciones, la molécula bicatenaria incluye una combinación de las siguientes modificaciones:
 a) La hebra anticodificante incluye un nucleótido 2'-5' o un nucleótido espejo en al menos una de las posiciones 5, 6, 7, 8 o 9 desde el extremo 5'; y
 b) la hebra codificante incluye al menos uno de un nucleótido 2'-5' y una pseudouridina en las posiciones 9 o 10 desde el extremo 5'.

En algunas realizaciones, la molécula bicatenaria incluye una combinación de las siguientes modificaciones:

- a) la hebra anticodificante incluye un nucleótido 2'-5' o un nucleótido espejo en al menos una de las posiciones 5, 6, 7, 8 o 9 desde el extremo 5'; y
- c) la hebra codificante incluye 4, 5 o 6 nucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 3' penúltima o 3' terminal.

En algunas realizaciones, la hebra codificante [(N)x o N¹-(N)x] incluye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar. En algunas realizaciones, la hebra anticodificante incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe en las posiciones 2, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17 y 19. En otras realizaciones, la hebra anticodificante incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe en las posiciones 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 y 19. En otras realizaciones, la hebra anticodificante incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe en las posiciones 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 y 19. En algunas realizaciones, la hebra anticodificante incluye una o más pirimidinas modificadas con 2'OMe-azúcar. En algunas realizaciones, todos los nucleótidos de pirimidina en la hebra anticodificante están modificados con 2'OMe-azúcar. En algunas realizaciones, la hebra codificante incluye pirimidinas modificadas con 2'OMe-azúcar.

En algunas realizaciones de la estructura A1 y la estructura A2, ni la hebra codificante ni la hebra anticodificante están fosforiladas en los extremos 3' y 5'. En otras realizaciones, una o ambas de la hebra codificante o la hebra anticodificante están fosforiladas en el extremo 3'.

En algunas realizaciones de la estructura A1 y la estructura A2, (N)y incluye al menos un resto no convencional seleccionado de un nucleótido espejo, un nucleótido 2'-5' y un ATN. En algunas realizaciones, el resto no convencional es un nucleótido espejo. En diversas realizaciones, el nucleótido espejo se selecciona de un L-ribonucleótido (L-ARN) y un L-desoxirribonucleótido (L-ADN). En realizaciones preferidas, el nucleótido espejo es L-ADN. En ciertas realizaciones, la hebra codificante comprende un resto no convencional en la posición 9 o 10 (desde el extremo 5'). En realizaciones preferidas, la hebra codificante incluye un resto no convencional en la posición 9 (desde el extremo 5'). En algunas realizaciones, la hebra codificante es de 19 nucleótidos de longitud y comprende 4, 5 o 6 restos no convencionales consecutivos en las posiciones 15 (desde el extremo 5'). En algunas realizaciones, la hebra codificante incluye 4 ribonucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 15, 16, 17 y 18. En algunas realizaciones, la hebra codificante incluye 5 ribonucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 15, 16, 17, 18 y 19. En diversas realizaciones, la hebra codificante comprende adicionalmente Z'. En algunas realizaciones, Z' incluye un resto C3OH o un resto C3Pi.

En algunas realizaciones de la estructura A1, (N')e incluye al menos un resto L-ADN. En algunas realizaciones, x= y= 19 y (N')y consiste en ribonucleótidos no modificados en las posiciones 1-17 y 19 y un L-ADN en la penúltima posición 3' (posición 18). En otras realizaciones, x= y= 19 y (N')y consiste en ribonucleótidos no modificados en las posiciones 1-16 y 19 y 2 L-ADN consecutivos en la penúltima posición 3' (posiciones 17 y 18). En diversas realizaciones, el resto no convencional es un nucleótido unido a un nucleótido adyacente por un ligamiento fosfato internucleotídico 2'-5'. Según diversas realizaciones, (N')y incluye 2, 3, 4, 5 o 6 ribonucleótidos consecutivos en el extremo 3' ligados por ligamientos internucleotídicos 2'-5'. En una realización, 4 nucleótidos consecutivos en el extremo 3' de (N')y están unidos por tres enlaces fosfodiéster 2'-5', en los que uno o más de los nucleótidos 2'-5' que forman los enlaces fosfodiéster 2'-5' incluyen adicionalmente una modificación de 3'-O-metil(3'OMe)-azúcar. Preferiblemente, el nucleótido 3' terminal de (N')y incluye una modificación de 2'OMe-azúcar. En ciertas realizaciones, x= y= 19 y (N')y incluye 2 o más nucleótidos consecutivos en las posiciones 15, 16, 17, 18 y 19 que incluyen un nucleótido unido a un nucleótido adyacente por un enlace internucleotídico 2'-5' (nucleótido 2'-5'). En diversas realizaciones, el nucleótido que forma el enlace internucleotídico 2'-5' incluye un nucleótido de 3'-desoxirribosa o un 3'-metoxinucleótido (3'-H o 3'-OMe en lugar de 3' OH). En algunas realizaciones, x= y= 19 y (N')y incluye nucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16 y 17 de tal modo que los nucleótidos adyacentes están ligados por un enlace internucleotídico 2'-5' entre las posiciones 15-16, 16-17 y 17-18; o en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19 de tal modo que los nucleótidos adyacentes están ligados por un enlace internucleotídico 2'-5' entre las posiciones 15-16, 16-17, 17-18 y 18-19 y está disponible un 3'OH en el nucleótido 3'-terminal o en las posiciones 16, 17 y 18, de tal modo que los nucleótidos adyacentes están ligados por un enlace internucleotídico 2'-5' entre las posiciones 16-17, 17-18 y 18-19. En algunas realizaciones, x= y= 19 y (N')y incluye nucleótidos 2'-5' en las posiciones 16 y 17 o en las posiciones 17 y 18 o en las posiciones 15 y 17 de tal modo que los nucleótidos adyacentes están ligados por un enlace internucleotídico 2'-5' entre las posiciones 16-17 y 17-18 o entre las posiciones 17-18 y 18-19 o entre las posiciones 15-16 y 17-18, respectivamente. En otras realizaciones, se sustituyen los ribonucleótidos de pirimidina (rU, rC) en (N')y por nucleótidos unidos al nucleótido adyacente por un enlace internucleotídico 2'-5'. En algunas realizaciones, se seleccionan las hebras anticodificante y codificante de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4, SERPINH1_12, SERPINH1_18, SERPINH1_30, SERPINH1_58 o SERPINH1_88, y x= y= 19 y (N')y comprende 5 nucleótidos consecutivos en el extremo 3' unidos por 4 ligamientos 2'-5', específicamente los ligamientos entre los nucleótidos en posición 15-16, 16-17, 17-18 y 18-19.

En algunas realizaciones, los ligamientos incluyen enlaces fosfodiéster. En algunas realizaciones, se seleccionan las hebras anticodificante y codificante de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4, SERPINH1_12, SERPINH1_18, SERPINH1_30, SERPINH1_58 o SERPINH1_88, x= y= 19 y (N')y comprende 5 nucleótidos consecutivos en el extremo 3' unidos por 4 ligamientos 2'-5' y opcionalmente además incluye Z' y z'

independientemente seleccionados de un resto abásico invertido y una caperuza de alquilo C3 [C3; mono(dihidrogenofosfato) de 1,3-propanodiol]. La caperuza de alquilo C3 se liga covalentemente al nucleótido 3' o 5' terminal. En algunas realizaciones, la caperuza C3 3'-terminal comprende adicionalmente un 3'-fosfato. En algunas realizaciones, la caperuza C3 3'-terminal comprende adicionalmente un grupo hidroxilo 3'-terminal.

En algunas realizaciones, se seleccionan las hebras anticodificante y codificante de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4, SERPINH1_12, SERPINH1_18, SERPINH1_30, SERPINH1_58 o SERPINH1_88 y $x = y = 19$ y (N')y incluye un L-ADN en posición 18; y (N')y incluye opcionalmente además Z' y z' independientemente seleccionados de un resto abásico invertido y una caperuza de alquilo C3 [C3; mono(dihidrogenofosfato) de 1,3-propanodiol].

En algunas realizaciones, (N')y incluye un fosfato 3'-terminal. En algunas realizaciones, (N')y incluye un hidroxilo 3'-terminal.

En algunas realizaciones, se seleccionan las hebras anticodificante y codificante de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4, SERPINH1_12, SERPINH1_18, SERPINH1_30, SERPINH1_58 o SERPINH1_88 y $x = y = 19$ y (N)x incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 o en las posiciones 2, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17, 19. En algunas realizaciones, se seleccionan las hebras anticodificante y codificante de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_4, SERPINH1_12, SERPINH1_18, SERPINH1_30, SERPINH1_58 y SERPINH1_88 y $x = y = 19$ y (N)x incluye pirimidinas modificadas con 2'OMe-azúcar. En algunas realizaciones, todas las pirimidinas en (N)x incluyen la modificación de 2'OMe-azúcar.

En algunas realizaciones, se seleccionan las hebras anticodificante y codificante de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_11, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_51a, SERPINH1_52 o SERPINH1_86 y $x = y = 18$ y N² es un resto de riboadenosina.

En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_11, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_51a, SERPINH1_52 o SERPINH1_86 y $x = y = 18$, y N²-(N')y incluye 5 nucleótidos consecutivos en el extremo 3' unidos por 4 ligamientos 2'-5', específicamente los ligamientos entre los nucleótidos en posición 15-16, 16-17, 17-18 y 18-19. En algunas realizaciones, los ligamientos incluyen enlaces fosfodiéster.

En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_11, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_51a, SERPINH1_52 o SERPINH1_86 y $x = y = 18$, y N²-(N')y incluye 5 nucleótidos consecutivos en el extremo 3' unidos por 4 ligamientos 2'-5' e incluye opcionalmente además Z' y z' independientemente seleccionados de un resto abásico invertido y una caperuza alquilo C3 [C3; mono(hidrogenofosfato) de 1,3-propanodiol].

En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_11, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_51a, SERPINH1_52 o SERPINH1_86 y $x = y = 18$, y N²-(N')y incluye un L-ADN en posición 18 y (N')y incluye opcionalmente además Z' y z' independientemente seleccionados de un resto abásico invertido y una caperuza alquilo C3 [C3; mono(dihidrogenofosfato) de 1,3-propanodiol].

En algunas realizaciones N²-(N')y comprende un fosfato 3'-terminal. En algunas realizaciones, N²-(N')y comprende un hidroxilo 3'-terminal.

En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_11, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_51a, SERPINH1_52 o SERPINH1_86 y $x = y = 18$, y N¹-(N)x incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 o en las posiciones 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19 o en las posiciones 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17 o en las posiciones 2, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17, 19. En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_11, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_51a, SERPINH1_52 o SERPINH1_86 y $x = y = 18$, y N¹-(N)x incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones 11, 13, 15, 17 y 19 (desde el extremo 5'). En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_11, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_51a, SERPINH1_52 o SERPINH1_86 y $x = y = 18$, y N¹-(N)x incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 o en las posiciones 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19. En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_11, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_52 o SERPINH1_86 y $x = y = 18$, y N¹-(N)x incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones 2, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17, 19.

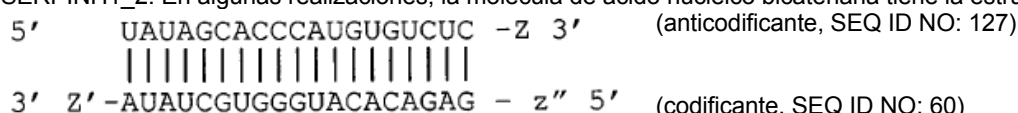
En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares de secuencias expuestos en SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_11, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_51a, SERPINH1_52 o SERPINH1_86 y $x = y = 18$, y $N^1-(N)x$ incluye pirimidinas modificadas con 2'OMe-azúcar. En algunas realizaciones, todas las pirimidinas en $(N)x$ incluyen la modificación de 2'OMe-azúcar. En algunas realizaciones, la hebra anticodificante incluye adicionalmente un L-ADN o un nucleótido 2'-5' en posición 5, 6 o 7 ($5' > 3'$). En otras realizaciones, la hebra anticodificante incluye adicionalmente un ribonucleótido que genera un ligamiento internucleotídico 2'-5' entre los ribonucleótidos en posiciones 5-6 o 6-7 ($5' > 3'$).

- 10 En realizaciones adicionales, $N^1-(N)x$ incluye adicionalmente Z, en la que Z incluye un saliente no nucleotídico. En algunas realizaciones, el saliente no nucleotídico es C3-C3 [mono(dihidrogenofosfato) de 1,3-propanodiol]₂.

En algunas realizaciones de la estructura A2, $(N)y$ incluye al menos un resto L-ADN. En algunas realizaciones, $x = y = 18$ y $(N)y$ consiste en ribonucleótidos no modificados en las posiciones 1-16 y 18 y un L-ADN en la penúltima posición 3' (posición 17). En otras realizaciones, $x = y = 18$ y $(N)y$ consiste en ribonucleótidos no modificados en las posiciones 1-15 y 18 y 2 L-ADN consecutivos en la penúltima posición 3' (posiciones 16 y 17). En diversas realizaciones, el resto no convencional es un nucleótido unido a un nucleótido adyacente por un ligamiento fosfato internucleotídico 2'-5'. Según diversas realizaciones, $(N)y$ incluye 2, 3, 4, 5 o 6 ribonucleótidos consecutivos en el extremo 3' ligados por ligamientos internucleotídicos 2'-5'. En una realización, se unen 4 nucleótidos consecutivos en el extremo 3' de $(N)y$ por 3 enlaces fosfodiéster 2'-5', en la que uno o más de los nucleótidos 2'-5' que forman los enlaces fosfodiéster 2'-5' incluyen adicionalmente una modificación de 3'-O-metil (3'OMe)-azúcar. Preferiblemente, el nucleótido 3'-terminal de $(N)y$ incluye una modificación de 2'OMe-azúcar. En ciertas realizaciones, $x = y = 18$ y en $(N)y$ 2 o más nucleótidos consecutivos en las posiciones 14, 15, 16, 17 y 18 incluyen un nucleótido unido a un nucleótido adyacente por un enlace internucleotídico 2'-5'. En diversas realizaciones, el nucleótido que forma el enlace internucleotídico 2'-5' incluye un nucleótido de 3'-desoxirribosa o un 3'-metoxinucleótido. En algunas realizaciones, $x = y = 18$ y $(N)y$ incluye nucleótidos unidos al nucleótido adyacente por un enlace internucleotídico 2'-5' entre las posiciones 15-16, 16-17 y 17-18 o entre las posiciones 16-17 y 17-18. En algunas realizaciones, $x = y = 18$ y $(N)y$ incluye nucleótidos unidos al nucleótido adyacente por un enlace internucleotídico 2'-5' entre las posiciones 14-15, 15-16, 16-17 y 17-18 o entre las posiciones 15-16, 16-17 y 17-18 o entre las posiciones 16-17 y 17-18 o entre las posiciones 17-18 o entre las posiciones 15-16 y 17-18. En otras realizaciones, se sustituyen los ribonucleótidos de pirimidina (rU, rC) en $(N)y$ por nucleótidos unidos al nucleótido adyacente por un enlace internucleotídico 2'-5'.

En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares oligonucleotídicos expuestos en la Tabla A-18 e identificados en la presente memoria como SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127), SERPINH1_6 (SEQ ID NO: 63 y 130), SERPINH1_45a (SEQ ID NO: 98 y 165), SERPINH1_51 (SEQ ID NO: 101 y 168) y SERPINH1_51a (SEQ ID NO: 105 y 172).

En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico bicatenaria incluye la hebra anticodificante expuesta en la SEQ ID NO: 127 y la hebra codificante expuesta en la SEQ ID NO: 60; identificadas en la presente memoria como SERPINH1_2. En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico bicatenaria tiene la estructura



en la que cada "I" representa un apareamiento de bases entre los ribonucleótidos;

en la que cada uno de A, C, G, U es independientemente un ribonucleótido no modificado o modificado o un resto no convencional;

en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es independientemente 1-5 nucleótidos o restos no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y

en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de $N^2-(N)y$.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 127) incluye una o más piridinas y/o purinas modificadas con 2'OMe-azúcar, un ribonucleótido 2'-5' en las posiciones 5, 6, 7 u 8 y un saliente nucleotídico o no nucleotídico 3'-terminal. En algunas realizaciones, la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) incluye 4 o 5 nucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 3'-terminal o penúltima, un resto nucleotídico o no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'. En otras realizaciones, la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) incluye una o más 2'OMe-pirimidinas, un resto nucleotídico o no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 127) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones ($5' > 3'$) 1, 3, 5, 9, 11, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3', y la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) se selecciona de una hebra codificante que incluye

- a) ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18 y 19, un saliente no nucleotídico C3OH 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; o
- b) ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18 y 19, un fosfato 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; o
- 5 c) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 5, 7, 13, y 16; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; o
- d) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 7, 13, 16 y 18; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9; un resto C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; o
- 10 e) ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19; un resto C3-Pi conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 127) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 15, 17, 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19: un saliente C3 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 127) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 15, 17, 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un saliente C3Pi-C3OH 3'-terminal; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18 y 19, un fosfato 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 127) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 5, 7, 13 y 16; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 127) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 7, 13, 16 y 18; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

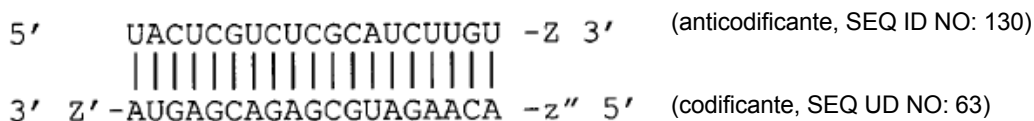
Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 127) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19; un resto C3-Pi conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 127) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19 y un saliente C3-C3 3'-terminal; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 7, 9, 13, 16 y 18 y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 60) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19, un fosfato 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 127) incluye una hebra anticodificante seleccionada de uno de

- a) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o
- b) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 6, 8, 10, 12, 14, 17, 18 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria que incluye la hebra anticodificante expuesta en la SEQ ID NO: 130 y la hebra codificante expuesta en la SEQ ID NO: 63; identificadas en la presente memoria como SERPINH1_6. En algunas realizaciones, el dúplex comprende la estructura



en la que cada "||" representa apareamiento de bases entre los ribonucleótidos;

en la que cada uno de A, C, G, U es independientemente un ribonucleótido no modificado o modificado, o un resto no convencional;

en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es independientemente 1-5 restos nucleotídicos o no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y

en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de N2-(N')y.

- 10 En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 63) incluye una o más pirimidinas modificadas con 2'OMe-azúcar; un saliente nucleotídico o no nucleotídico 3'-terminal y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'. En algunas realizaciones, la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 130) incluye una o más pirimidinas modificadas con 2'OMe-azúcar, un resto nucleotídico o no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 63) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 14 y 18; un resto C3OH o C3Pi conectado covalentemente con el extremo 3'; y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 130) se selecciona de una hebra anticodificante que incluye

- a) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7; y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o
 b) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 7, 9, 12, 13 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7; y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o
 c) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7; y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o
 d) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un dU en la posición 1; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 63) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 14 y 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 130) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula oligonucleotídica en dúplex en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 63) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 14 y 18 y opcionalmente en la posición 2; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 130) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 7, 9, 12, 13 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3:Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula oligonucleotídica en dúplex en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 63) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 14 y 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 130) se selecciona de una hebra anticodificante que incluye

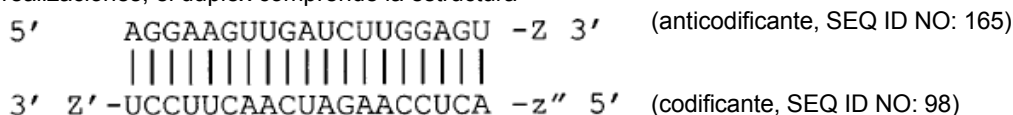
- a) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7; y un resto C3Pi-C3Pi o C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o
 b) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 7, 9, 12, 13 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7; y un resto C3Pi-C3Pi o C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 63) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 14 y 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 130) incluye ribonucleótidos modificados

con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7; y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 63) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 14 y 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 130) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 7, 9, 12, 13, y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un saliente C3Pi-C3OH 3'-terminal.

En algunas realizaciones, el dúplex incluye la hebra anticodificante expuesta en la SEQ ID NO: 165 y la hebra codificante expuesta en la SEQ ID NO: 98; identificadas en la presente memoria como SERPINH1_45a. En algunas realizaciones, el dúplex comprende la estructura



en la que cada "I" representa apareamiento de bases entre los ribonucleótidos;

en la que cada uno de A, C, G, U es independientemente un ribonucleótido no modificado o modificado, o un resto no convencional;

en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es independientemente 1-5 restos nucleotídicos o no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y

en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de N2-(N')y.

En algunas realizaciones, la hebra codificante (SEQ ID NO: 98) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones (5'>3') 15, 16, 17, y 18 o 15, 16, 17, 18 y 19, un resto nucleotídico o no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'. En algunas realizaciones, la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 165) incluye pirimidinas o purinas modificadas con 2'OMe-azúcar, un nucleótido 2'-5' en la posición 5, 6, 7 u 8 (5'>3'); y un resto nucleotídico o no nucleotídico ligado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones la hebra codificante (SEQ ID NO:98) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones (5'>3') 15, 16, 17, 18 y 19; un resto no nucleotídico C3Pi o C3-OH 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 165) incluye una hebra anticodificante seleccionada de una de

a) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17 y 19; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un saliente C3Pi-C3Pi o C3Pi-C3OH 3'-terminal; o

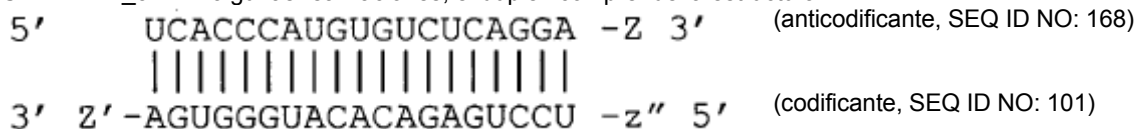
b) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17 y 19 y un saliente C3Pi-C3Pi o C3Pi-C3OH 3'-terminal;

c) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17 y 19; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un saliente C3Pi-C3Pi o C3Pi-C3OH 3'-terminal; o

d) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 y 19 y un saliente C3Pi-C3Pi o C3Pi-C3OH 3'-terminal.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO:98) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones (5'>3') 15, 16, 17, 18, y 19, un resto C3-OH 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 165) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17 y 19; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un saliente C3Pi-COH 3'-terminal.

En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico bicatenaria incluye la hebra anticodificante expuesta en la SEQ ID NO: 168 y la hebra codificante expuesta en la SEQ ID NO: 101; identificadas en la presente memoria como SERPINH1_51. En algunas realizaciones, el dúplex comprende la estructura



en la que cada "I" representa apareamiento de bases entre los ribonucleótidos;

en la que cada uno A, C, G, U es independientemente un ribonucleótido no modificado o modificado, o un resto no convencional;

en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es independientemente 1-5 restos nucleotídicos o no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y

en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de N2-(N')y.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 101) incluye pirimidinas modificadas con 2'OMe, opcionalmente un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9 o 10; un resto nucleotídico o no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y opcionalmente un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'. En algunas realizaciones, la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 168) incluye pirimidinas y/o purinas modificadas con 2'OMe-azúcar, un nucleótido 2'-5' en la posición 5, 6, 7 u 8 (5'>3') y un resto nucleotídico o no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 101) incluye pirimidinas modificadas con 2'OMe en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13 y 17, opcionalmente un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9 o 10, un resto no nucleotídico C3Pi o C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 168) se selecciona de una hebra anticodificante que incluye

- a) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 8, y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 o 7 y un saliente C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o
- b) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 4, 8, 13 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 o 7 y un saliente C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o
- c) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 4, 8, 11 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un saliente C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o
- d) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 8, 12, 13, y 15; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

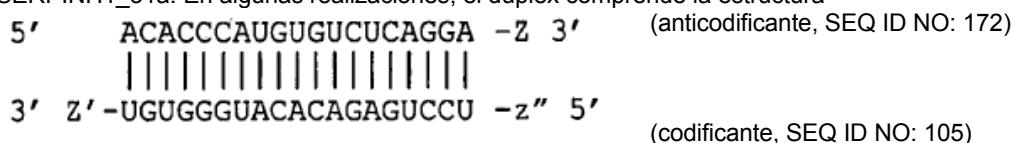
Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 101) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13, y 17, opcionalmente un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3-OH conectado covalentemente con 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 168) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 8, y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 101) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13, y 17, opcionalmente un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3-OH conectado covalentemente con 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 168) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 4, 8, 13 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 101) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13, y 17, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 168) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 4, 8, 11 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 101) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13, y 17, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 168) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 8, 12, 13, y 15; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico bicatenaria incluye la hebra anticodificante expuesta en la SEQ ID NO: 172 y la hebra codificante expuesta en la SEQ ID NO: 105; identificadas en la presente memoria como SERPINH1_51a. En algunas realizaciones, el dúplex comprende la estructura



en la que cada "||" representa apareamiento de bases entre los ribonucleótidos;

en la que cada uno de A, C, G y U es independientemente un ribonucleótido no modificado o modificado, o un resto no convencional;

en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es independientemente 1-5 restos nucleotídicos o no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos

5 conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y
en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de la hebra codificante.

10 En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 105) incluye pirimidinas modificadas con 2'OMe, opcionalmente un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9 o 10; un resto nucleotídico o no nucleotídico ligado covalentemente con el extremo 3' y opcionalmente un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'. En algunas realizaciones la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 172) incluye pirimidinas y/o purinas modificadas con 2'OMe-azúcar, un nucleótido 2'-5' en la posición 5, 6, 7 u 8 (5'>3') y un resto nucleotídico o no nucleotídico ligado covalentemente con el extremo 3'.

15 En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 105) incluye pirimidinas modificadas con 2'OMe en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13, y 17, opcionalmente un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9 o 10, un resto no nucleotídico C3Pi o C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 172) se selecciona de una hebra anticodificante que incluye

20 a) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 8, y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 o 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o

b) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 8, 13 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 o 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o

25 c) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 8, 11 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o

d) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 8, 12, 13 y 15; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

30 Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 105) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13, y 17, opcionalmente un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3-OH conectado covalentemente con 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 172) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 8 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

35 Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 105) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13, y 17, opcionalmente un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3-OH conectado covalentemente con 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 172) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 8, 13 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

45 Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 105) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13, y 17, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 172) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 8, 11 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

50 Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 105) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13, y 17, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 172) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 8, 12, 13, y 15; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

60 En algunas realizaciones, las hebras anticodificante y codificante se seleccionan de los pares oligonucleotídicos expuestos en la Tabla A-19 e identificados en la presente memoria como SERPINH1_4 (SEQ ID NO: 195 y 220) y SERPINH1_12 (SEQ ID NO: 196 y 221).

En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico bicatenaria incluye la hebra anticodificante expuesta en la SEQ ID NO: 220 y la hebra codificante expuesta en la SEQ ID NO: 194; identificadas en la presente memoria como SERPINH1_4. En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico bicatenaria tiene la estructura

5' AAUAGCACCCAUGUGUCUC -Z 3' (anticodificante, SEQ ID NO: 220)

|||||

3' Z'-UUAUCGUGGGUACACAGAG - z'' 5' (codificante, SEQ ID NO 195)

en la que cada "I" representa apareamiento de bases entre los ribonucleótidos;

5 en la que cada uno de A, C, G, U es independientemente un ribonucleótido no modificado o modificado, o un resto no convencional;

en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es independientemente 1-5 restos nucleotídicos o no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y

10 en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de N²-(N')y.

En algunas realizaciones se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7, y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 195) se selecciona de una hebra codificante que incluye

15 a) ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18 y 19, un resto C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; o

20 b) ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18 y 19, un fosfato 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; o

c) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 5, 7, 13 y 16; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 18; un resto C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; o

25 d) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 7, 13, 16 y 18 un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9; un resto C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; o

e) ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19, un resto C3Pi conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

30 Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 195) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19; un resto C3 conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 195) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19; un fosfato 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 195) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 5, 7, 13, y 16; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 18; un resto C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 15, 17, 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 195) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 7, 13, 16 y 18; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9; un resto C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 15, 17 y 19, un ribonucleótido en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 195) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19; un resto C3Pi conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

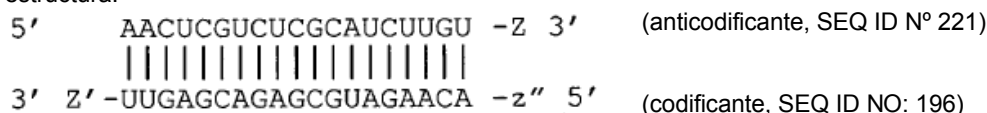
En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17, 19 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante (SEQ ID NO: 195) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 7, 9, 13, 16 y 18 y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 195) incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones 15, 16, 17, 18, y 19, un fosfato 3'-terminal y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye una hebra anticodificante seleccionada de una de

a) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 y 19 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o

b) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 6, 8, 10, 12, 14, 17 y 18 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria que incluye la hebra anticodificante expuesta en la SEQ ID NO: 130 y la hebra codificante expuesta en la SEQ ID NO: 63; identificadas en la presente memoria como SERPINH1_12. En algunas realizaciones, el dúplex comprende la estructura:



en la que cada "I" representa apareamiento de bases entre los ribonucleótidos;

en la que cada uno de A, C, G, U es independientemente un ribonucleótido no modificado o modificado, o un resto no convencional;

en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es independientemente 1-5 restos nucleotídicos o no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y

en la que z'' puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de N2-(N')y.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 196) incluye una o más pirimidinas modificadas con 2'OMe-azúcar; un saliente nucleotídico o no nucleotídico 3'-terminal y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'. En algunas realizaciones, la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 221) incluye una o más pirimidinas modificadas con 2'OMe-azúcar, un resto nucleotídico o no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 196) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 14 y 18; un resto C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 221) se selecciona de una hebra anticodificante que incluye

a) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o

b) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 7, 9, 12, 13 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 196) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 14 y 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 221) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un ribonucleótido en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula oligonucleotídica en dúplex en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 196) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 14 y 18 y opcionalmente en la posición 2; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 221) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 7, 9, 12, 13, y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones, se proporciona una molécula oligonucleotídica en dúplex en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 196) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 14 y 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 221) se selecciona de una hebra anticodificante que incluye

- a) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; o
- b) ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 7, 9, 12, 13 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 196) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 14 y 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

Se proporciona en la presente memoria una molécula de ácido nucleico bicatenaria en la que la hebra codificante (SEQ ID NO: 196) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 14 y 18; un resto C3-OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante (SEQ ID NO: 220) incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 7, 9, 12, 13, y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En realizaciones adicionales de las estructuras A1 y A2, (N')y incluye 1-8 ribonucleótidos modificados en los que el ribonucleótido modificado es un nucleótido de ADN. En ciertas realizaciones, (N')y incluye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o hasta 8 restos de ADN.

En algunas realizaciones, está presente cualquiera de Z o Z' e incluye independientemente dos restos no nucleotídicos.

En realizaciones adicionales, Z y Z' están presentes y cada uno incluye independientemente dos restos no nucleotídicos.

En algunas realizaciones, cada uno de Z y Z' incluye un resto abásico, por ejemplo un resto desoxirriboabásico (al que se hace referencia en la presente memoria como "dAb") o un resto riboabásico (al que se hace referencia en la presente memoria como "rAb"). En algunas realizaciones, cada uno de Z y/o Z' incluye dos restos abásicos ligados covalentemente y es, por ejemplo, dAb-dAb o rAb-rAb o dAb-rAb o rAb-dAb, en los que cada resto está conectado covalentemente con un resto adyacente, preferiblemente a través de un enlace basado en fósforo. En algunas realizaciones, el enlace basado en fósforo incluye un enlace fosforotioato, fosfonoacetato o fosfodiéster. En realizaciones preferidas, el enlace basado en fósforo incluye un enlace fosfodiéster.

En algunas realizaciones, cada uno de Z y/o Z' incluye independientemente un resto alquilo, opcionalmente un resto propano [(CH₂)₃] (C3) o un derivado del mismo incluyendo propanol (C3-OH) y derivados fosfóricos del propanodiol ("C3-3'Pi"). En algunas realizaciones, cada uno de Z y/o Z' incluye dos restos alquilo ligados covalentemente con el extremo 3' de la hebra anticodificante o la hebra codificante a través de un ligamiento fosfodiéster o fosforotioato y ligados covalentemente entre sí a través de un ligamiento fosfodiéster o fosforotioato y, en algunos ejemplos, es C3Pi-C3Pi o C3Pi-C3OH. El extremo 3' de la hebra anticodificante y/o el extremo 3' de la hebra codificante están conectados covalentemente con el resto C3 a través de un enlace basado en fósforo y el resto C3 está conjugado covalentemente con un resto C3-OH a través de un enlace basado en fósforo. En algunas realizaciones, los enlaces basados en fósforo incluyen un enlace fosforotioato, fosfonoacetato o fosfodiéster. En realizaciones preferidas, el enlace basado en fósforo incluye un enlace fosfodiéster.

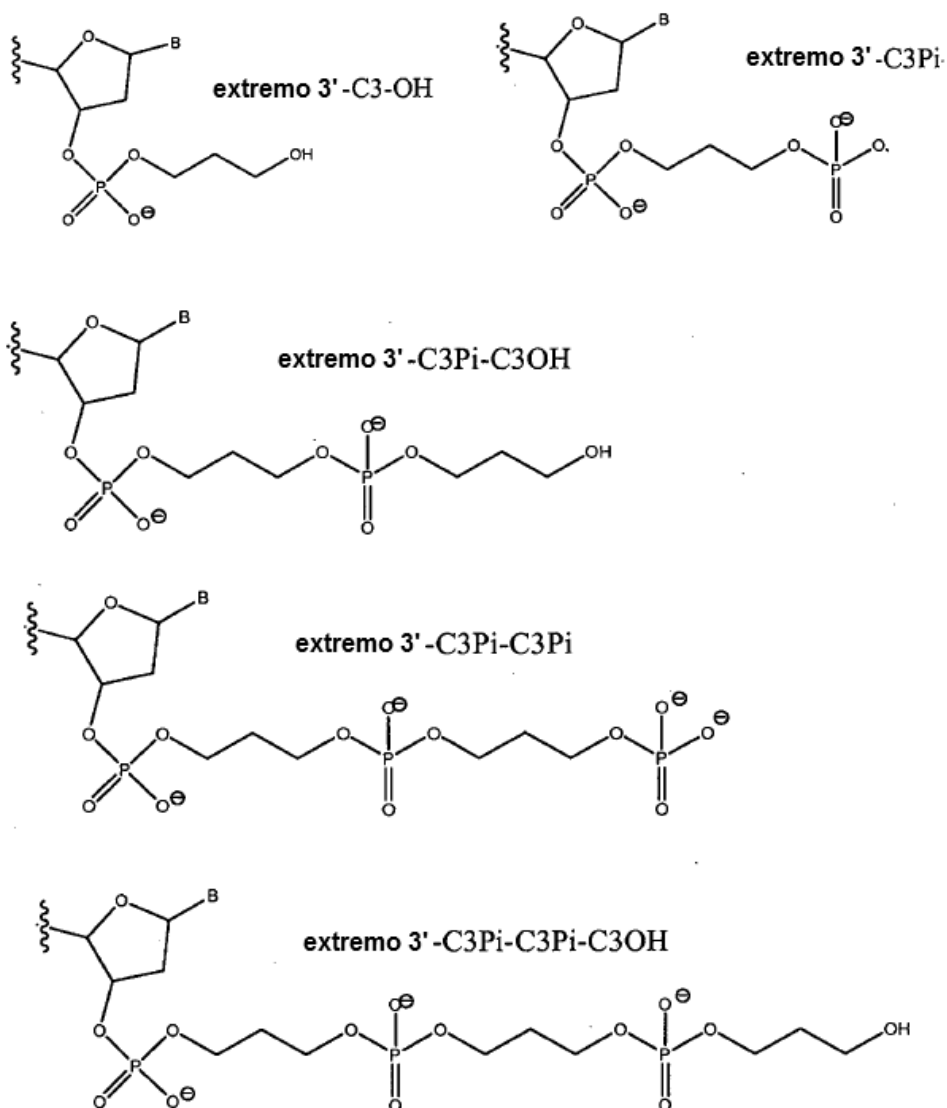
En diversas realizaciones de la estructura A1 o la estructura A2, Z y Z' están ausentes. En otras realizaciones, Z o Z' está presente. En algunas realizaciones, cada uno de Z y/o Z' incluye independientemente un resto alquilo C2, C3, C4, C5 o C6, opcionalmente un resto C3 [propano, -(CH₂)₃-] o un derivado de mismo incluyendo propanol (C3-OH/C3OH), propanodiol y un derivado fosfodiéster de propanodiol ("C3Pi"). En realizaciones preferidas, cada uno de Z y/o Z' incluye dos restos hidrocarburos y, en algunos ejemplos, es C3Pi-C3OH o C3Pi-C3Pi. Cada C3 está conjugado covalentemente con un C3 adyacente a través de un enlace covalente, preferiblemente un enlace basado en fósforo. En algunas realizaciones, el enlace basado en fósforo es un enlace fosforotioato, fosfonoacetato o fosfodiéster.

En realizaciones específicas, x= y= 19 y Z comprende al menos un saliente alquilo C3. En algunas realizaciones, el saliente C3-C3 está conectado covalentemente con el extremo 3' de (N)x o (N')y a través de un ligamiento covalente, preferiblemente un ligamiento fosfodiéster. En algunas realizaciones, el ligamiento entre el primer C3 y el segundo C3 es un ligamiento fosfodiéster. En algunas realizaciones, el saliente no nucleotídico 3' es C3Pi-C3Pi. En algunas

realizaciones, el saliente no nucleotídico 3' es C3Pi-C3Ps. En algunas realizaciones, el saliente no nucleotídico 3' es C3Pi-C3OH (OH es hidroxilo). En algunas realizaciones, el saliente no nucleotídico 3' es C3Pi-C3OH.

En diversas realizaciones, el resto alquilo comprende un derivado de alquilo que incluye restos alquilo C3, alquilo C4, alquilo C5 o alquilo C6 que comprende un hidroxilo terminal, un amino terminal o un grupo fosfato terminal. En algunas realizaciones, el resto alquilo es un resto alquilo C3 o derivado de alquilo C3. En algunas realizaciones, el resto alquilo C3 comprende propanol, fosfato de propilo, fosforotioato de propilo o una combinación de los mismos. El resto alquilo C3 está ligado covalentemente con el extremo 3' de (N')y y/o el extremo 3' de (N)x a través de un enlace fosfodiéster. En algunas realizaciones, el resto alquilo comprende propanol, fosfato de propilo o fosforotioato de propilo. En algunas realizaciones, cada uno de Z y Z' se selecciona independientemente de propanol, fosfato de propilo y fosforotioato de propilo, combinaciones de los mismos o múltiplos de los mismos, en particular 2 o 3 de propanol, fosfato de propilo o fosforotioato de propilo ligados covalentemente o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, cada uno de Z y Z' se selecciona independientemente de fosfato de propilo, fosforotioato de propilo, fosfato de propilo-propanol; fosfato de propilo-fosforotioato de propilo; fosfato de propilo-fosfato de propilo; (fosfato de propilo)₃, (fosfato de propilo)₂-propanol, (fosfato de propilo)₂-fosforotioato de propilo. Puede incluirse en Z o Z' cualquier resto conjugado con propano o propanol.

Las estructuras de los restos no nucleotídicos 3'-terminales ejemplares son como siguen:



En algunas realizaciones cada uno de Z y Z' se selecciona independientemente de propanol, fosfato de propilo, fosforotioato de propilo, combinaciones de los mismos o múltiplos de los mismos.

En algunas realizaciones, cada uno de Z y Z' se selecciona independientemente de fosfato de propilo, fosforotioato de propilo, fosfato de propilo-propanol, fosfato de propilo-fosforotioato de propilo; fosfato de propilo-fosfato de propilo; (fosfato de propilo)₃, (fosfato de propilo)₂-propanol y (fosfato de propilo)₂-fosforotioato de propilo. Puede incluirse en Z o Z' cualquier resto conjugado con propano o propanol.

En realizaciones adicionales, cada uno de Z y/o Z' incluye una combinación de un resto abásico y un desoxirribonucleótido o ribonucleótido no modificado o una combinación de un resto hidrocarburo y un desoxirribonucleótido o ribonucleótido no modificado o una combinación de un resto abásico (desoxirribo o ribo) y un resto hidrocarburo. En dichas realizaciones, cada uno de Z y/o Z' incluye C3-rAb o C3-dAb, en las que cada resto está unido covalentemente al resto adyacente a través de un enlace basado en fósforo, preferiblemente un enlace fosfodiéster, fosforotioato o fosfonoacetato.

En ciertas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico como se dan a conocer en la presente memoria incluyen una secuencia oligonucleotídica codificante seleccionada de una cualquiera de los oligonucleótidos nº 2-67 o 68-92, mostrados a continuación en las Tablas A-18 y A-19, respectivamente.

En ciertas realizaciones preferidas, los compuestos proporcionados incluyen Compuesto_1, Compuesto_2, Compuesto_3, Compuesto_4, Compuesto_5, Compuesto_6, Compuesto_7, Compuesto_8 y Compuesto_9 como se describen en la presente memoria.

En algunas realizaciones (tales como por ejemplo el Compuesto_1, Compuesto_5 y Compuesto_6 como se describen en la presente memoria), se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 127 y la hebra codificante es la SEQ ID NO: 60. En ciertas realizaciones, se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 127 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar, un ribonucleótido 2'-5' en al menos una de las posiciones 1, 5, 6 o 7 y un resto no nucleotídico 3'-terminal conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante es la SEQ ID NO: 60 e incluye al menos un ribonucleótido 2'-5' o ribonucleótido modificado con 2'OMe-azúcar, un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'. En algunas realizaciones, se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 127 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17 y 19 (5'>3'), un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto no nucleotídico C3OH 3'-terminal conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante es la SEQ ID NO: 60 e incluye 5 ribonucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 3'-terminales 15, 16, 17, 18 y 19 (5'>3'), un resto no nucleotídico C3Pi conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

En una realización, se proporciona el Compuesto_1, que es una molécula de ácido nucleico bicatenaria de 19 unidades en la que la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 127 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17 y 19 (5'>3'), un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto no nucleotídico C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante es la SEQ ID NO: 60 e incluye 5 ribonucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 3'-terminales 15, 16, 17, 18 y 19 (5'>3'), un resto no nucleotídico C3Pi conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y que incluye adicionalmente un ribonucleótido modificado con 2'OMe-azúcar en la posición 1 de la hebra anticodificante.

En una realización, se proporciona el Compuesto_6 que es una molécula de ácido nucleico bicatenaria de 19 unidades en la que la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 127 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17 y 19 (5'>3'), un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto no nucleotídico C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante es la SEQ ID NO: 60 e incluye 5 ribonucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 3'-terminales 15, 16, 17, 18 y 19 (5'>3'), un resto no nucleotídico C3Pi conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y que incluye adicionalmente un ribonucleótido 2'-5' en la posición 1 de la hebra anticodificante.

En una realización, se proporciona el Compuesto_5, que es una molécula de ácido nucleico bicatenaria de 19 unidades en la que la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 127 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17 y 19 (5'>3'), un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto no nucleotídico C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante es la SEQ ID NO: 60 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 7, 13, 16 y 18, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.

En algunas realizaciones (tales como por ejemplo Compuesto_2 y Compuesto_7 como se describen en la presente memoria), se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 63 y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 130. En algunas realizaciones, se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 63 e incluye ribonucleótidos de pirimidina modificados con 2'OMe-azúcar; un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 130 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3'. En algunas realizaciones,

se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 63 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar, un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 130 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar; un ribonucleótido en al menos una de las posiciones 5, 6 o 7 y un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3'.

En una realización, se proporciona el Compuesto_2, que es una molécula de ácido nucleico bicatenaria de 19 unidades en la que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 63 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 14 y 18; un resto C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 130 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 12, 13 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en al menos una de las posiciones 5, 6 o 7 y un resto no nucleotídico C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En una realización, se proporciona el Compuesto_7, que es una molécula de ácido nucleico bicatenaria de 19 unidades en la que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 63 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 14 y 18; un resto C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 130 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13 y 17; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un resto no nucleotídico C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones (tales como por ejemplo el Compuesto_3 como se describe en la presente memoria), se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 98 y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 165. En algunas realizaciones, se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 98 e incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones del extremo 3'; un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 165 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar; un ribonucleótido 2'-5' en al menos una de las posiciones 5, 6 o 7 y un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3'. En una realización, se proporciona el Compuesto_3 que es una molécula de ácido nucleico bicatenaria de 19 unidades en la que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 98 e incluye ribonucleótidos 2'-5' en las posiciones (5'>3') 15, 16, 17, 18 y 19; un resto C3-OH 3' conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 165 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17 y 19; un ribonucleótido 2'-5' en la posición 7 y un C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En algunas realizaciones (tales como por ejemplo, Compuesto_4, Compuesto_8 y Compuesto_9 descritos en la presente memoria), se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 101 y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 168. En algunas realizaciones se proporcionan moléculas de ácido nucleico bicatenarias de 19 unidades en las que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 101 e incluye ribonucleótidos de pirimidina modificados con 2'OMe-azúcar, un ribonucleótido 2'-5' opcional en una de las posiciones 9 o 10, un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 168 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar, un ribonucleótido 2'-5' en al menos una de las posiciones 5, 6 o 7 y un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3'.

En una realización, se proporciona el Compuesto_4, que es una molécula de ácido nucleico bicatenaria de 19 unidades en la que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 101 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13 y 17, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 9, un resto no nucleotídico C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 168 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 4, 8, 11 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un saliente 3' C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En una realización, se proporciona el Compuesto_8, que es una molécula de ácido nucleico bicatenaria de 19 unidades en la que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 101 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 4, 11, 13 y 17, un resto no nucleotídico C3OH conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 168 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 4, 8, 13 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un saliente 3' C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En una realización, se proporciona el Compuesto_9, que es una molécula de ácido nucleico bicatenaria de 19 unidades en la que la hebra codificante es la SEQ ID NO: 101 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 2, 4, 11, 13, y 17, un resto no nucleotídico C3OH conectado covalentemente con el

extremo 3' y un resto desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'; y la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 168 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar en las posiciones (5'>3') 1, 4, 8, 11 y 15, un ribonucleótido 2'-5' en la posición 6 y un resto no nucleotídico 3' C3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3'.

En otro aspecto, se proporcionan procedimientos para reducir la expresión de hsp47 en una célula mediante la introducción en una célula de una molécula de ácido nucleico como se proporciona en la presente memoria en una cantidad suficiente para reducir la expresión de hsp47. En una realización, la célula es una célula estrellada hepatocelular. En otra realización, la célula es una célula estrellada en tejido renal o pulmonar. En ciertas realizaciones, el procedimiento se efectúa *in vitro*, en otras realizaciones, el procedimiento se efectúa *in vivo*.

En aún otro aspecto, se proporcionan procedimientos para tratar un individuo que padece una enfermedad asociada a hsp47. Los procedimientos incluyen administrar al individuo una molécula de ácido nucleico tal como se proporciona en la presente memoria en una cantidad suficiente para reducir la expresión de hsp47. En ciertas realizaciones, la enfermedad asociada a hsp47 es una enfermedad seleccionada del grupo consistente en fibrosis hepática, cirrosis, fibrosis pulmonar incluyendo fibrosis de pulmón (incluyendo FPI), cualquier afección que cause fibrosis renal (p.ej., ERC incluyendo ERET), fibrosis peritoneal, daño hepático crónico, fibrillogénesis, enfermedades fibróticas en otros órganos, cicatrización anormal (queloides) asociada a todos los tipos posibles de lesión cutánea accidental y yatrogénica (operaciones), escleroderma, cardiofibrosis, fracaso de operación de filtración de glaucoma y adhesiones intestinales. En algunas realizaciones, los compuestos pueden ser útiles para tratar indicaciones específicas de órgano, por ejemplo indicaciones que incluyen aquellas mostradas en la Tabla 2 siguiente:

Tabla 2

Órgano	Indicación
Piel	Cicatrización patológica como queloides y cicatriz hipertrófica Cicatrización quirúrgica Cicatrización por lesión Queloides o dermatopatía fibrosante nefrogénica
Peritoneo	Fibrosis peritoneal Adhesiones Esclerosis peritoneal asociada a una diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA)
Hígado	Cirrosis incluyendo cirrosis después de hepatitis C, cirrosis biliar primaria Fibrosis hepática, p.ej. prevención de la fibrosis hepática en portadores de hepatitis C Esquistosomiasis Colangitis Cirrosis hepática debida a hepatitis C después de trasplante de hígado o esteatohepatitis no alcohólica (EHNA)
Páncreas	Fibrosis inter(peri)lobular (como en pancreatitis crónica alcohólica), fibrosis periductal (como en pancreatitis hereditaria), fibrosis periductal e interlobular (como en pancreatitis autoinmunitaria), fibrosis interlobular e intralobular (como en pancreatitis obstructiva crónica)
Riñón	Enfermedad renal crónica (ERC) de cualquier etiología. Tratamiento de ERC de etapa temprana (SCr elevado) en pacientes diabéticos ("previene" un deterioro adicional de la función renal) Fibrosis renal asociada a glomeruloesclerosis por lupus Nefropatía diabética
Corazón	Insuficiencia cardíaca congestiva Fibrosis endomiocárdica Cardiofibrosis Fibrosis asociada a infarto de miocardio
Pulmón	Asma, fibrosis pulmonar idiopática (FPI) Fibrosis intersticial de pulmón (FIP) Neumonitis por radiación que conduce a fibrosis pulmonar (p.ej., debida a radiación de tratamiento de cáncer)
Médula ósea	Trastornos mieloproliferativos: mielofibrosis (MF), policitemia vera (PV), trombocitopenia esencial (TE) Mielofibrosis idiopática Mielofibrosis inducida por fármacos

Ojo	<u>Segmento anterior</u>: opacificación de córnea, p.ej. después de distrofias heredadas, queratitis herpética o pterigia; glaucoma <u>Segmento posterior</u>: Fibrosis y desprendimiento de retina por tracción, una complicación de la retinopatía diabética avanzada (RD); cicatrización fibrovascular y gliosis de retina <u>Bajo la retina</u>: Fibrosis, por ejemplo posterior a hemorragia subretiniana asociada a DME neovascular Fibrosis retroorbital, cirugía postcataratas, vitreorretinopatía proliferativa Penfigoide cicatricial ocular
Intestino	Fibrosis intestinal, enfermedad de Crohn
Cuerdas vocales	Cicatrización de cuerdas vocales, fibrosis de la mucosa de cuerdas vocales, fibrosis laríngea
Vasculatura	Aterosclerosis, reestenosis arterial posangioplastia
Multisistémico	Esclerosis sistémica por escleroderma; fibroesclerosis multifocal; enfermedad del hospedador contra el injerto escleroderma toso en receptores de trasplante de médula ósea y fibrosis sistémica nefrogénica (exposición a agentes de contraste basados en gadolinio (ACGA), 30 % de los IRM)
Malignidades de diversos orígenes	Cáncer metastásico e invasivo al inhibir la función de miofibroblastos asociados a tumor activados

En algunas realizaciones, las indicaciones preferidas incluyen cirrosis hepática debida a hepatitis C después de trasplante de hígado, cirrosis hepática debida a esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), fibrosis pulmonar idiopática, neumonitis por radiación que conduce a fibrosis pulmonar, nefropatía diabética, esclerosis peritoneal asociada a diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA) y penfigoide cicatricial ocular.

Las indicaciones hepáticas fibróticas incluyen cirrosis alcohólica, cirrosis por hepatitis B, cirrosis por hepatitis C, cirrosis por hepatitis C (Hep C) después de trasplante de hígado ortotópico (OLT), EHNA/EGHNA, cirrosis biliar primaria (CBP), colangitis esclerosante primaria (CEP), atresia biliar, deficiencia de α 1-antitripsina (A1AD), enfermedades de almacenamiento de cobre (enfermedad de Wilson), fructosemia, galactosemia, enfermedades de almacenamiento de glicógeno (especialmente los tipos III, IV, VI, IX y X), síndromes de sobrecarga de hierro (hemocromatosis), anomalías lipídicas (p.ej., enfermedad de Gaucher), trastornos peroxisómicos (p.ej., síndrome de Zellweger), tirosinemia, fibrosis hepática congénita (p.ej., brucelosis), parasitarias (p.ej., equinococcosis) y síndrome de Budd-Chiari (enfermedad veno-oclusiva hepática).

Las indicaciones pulmonares incluyen fibrosis pulmonar idiopática, silicosis, neumoconiosis, displasia broncopulmonar en el recién nacido después de síndrome de dificultad respiratoria neonatal, lesión de pulmón por bleomicina/quimioterapia, bronquiolitis obliterante (SBO) después de trasplante de pulmón, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística y asma.

Las indicaciones cardíacas incluyen cardiomiopatía, aterosclerosis (enfermedad de Bergers, etc.), fibrosis endomiocárdica, fibrilación auricular y cicatrización después de infarto de miocardio (IM).

Otras indicaciones torácicas incluyen reacciones del tejido de la cápsula inducidas por radiación alrededor de implantes de mama texturizados y fibrosis de la submucosa oral.

Las indicaciones renales incluyen enfermedad renal poliquística dominante autosómica (ERPDA), nefropatía diabética (glomeruloesclerosis diabética), GEFS (colapsante frente a otras variantes histológicas), nefropatía de IgA (enfermedad de Berger), nefritis lúpica, enfermedad de Wegner, escleroderma, síndrome de Goodpasture, fibrosis tubulointersticial: nefropatía inducida por los fármacos (protectores) penicilinas, cefalosporinas y analgésicos, glomerulonefritis membranoproliferativa (GNMP), púrpura de Henoch-Schonlein, nefropatías congénitas: enfermedad quística medular, síndrome oncorotuliano y síndrome de Alport.

Las indicaciones de médula ósea incluyen linfangioleiomiomatosis (LAM), enfermedad crónica de injerto contra el hospedador, policitemia vera, trombocitopenia esencial y mielofibrosis.

Las indicaciones oculares incluyen retinopatía de prematuridad (RP), penfigoide cicatricial ocular, fibrosis de glándulas lacrimales, cirugía de desprendimiento de retina, opacidad corneal, queratitis herpética, pterigia, glaucoma, degeneración macular relacionada con la edad (DME/DMRE), retinopatía por diabetes sacarina (DS) asociada a fibrosis retinal.

Las indicaciones ginecológicas incluyen adición para endometriosis a la terapia hormonal para la prevención de cicatrización, fibrosis/salpingitis después de ETS.

Las indicaciones sistémicas incluyen enfermedad de Dupuytren, fibromatosis palmar, enfermedad de Peyronie, enfermedad de Ledderhose, queloides, fibroesclerosis multifocal, fibrosis sistémica nefrogénica y mielofibrosis nefrogénica (anemia).

Las enfermedades fibróticas asociadas a lesiones incluyen cicatrización y contracción de piel y tejido blando inducidas por quemaduras (incluidas químicas), cicatrización de piel y órganos inducida por radiación después de tratamiento con radiación terapéutica del cáncer y queloides (piel).

- 5 Las indicaciones quirúrgicas incluyen fibrosis peritoneal después de catéter de diálisis peritoneal, implante de córnea, implante coclear, otros implantes, implantes de silicona en los senos, sinusitis crónica, adhesiones, hiperplasia de la pseudoíntima o injertos de diálisis.

Otras indicaciones incluyen pancreatitis crónica.

- 10 En algunas realizaciones, se proporciona un procedimiento para el tratamiento de un sujeto que padece fibrosis hepática que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria, tratando así la fibrosis hepática. En algunas realizaciones, el sujeto padece cirrosis del hígado debida a hepatitis. En algunas realizaciones, el sujeto padece cirrosis del hígado debida a EHNA.

- 15 En algunas realizaciones, se proporciona el uso de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria para la fabricación de un medicamento para tratar la fibrosis hepática. En algunas realizaciones, la fibrosis hepática es debida a hepatitis. En algunas realizaciones, la fibrosis hepática es debida a EHNA.

- 20 En algunas realizaciones, se proporciona un procedimiento para la remodelación de tejido cicatricial que comprende administrar a un sujeto necesitado de ello una cantidad eficaz de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria, efectuando así la remodelación del tejido cicatricial. En algunas realizaciones, el tejido cicatricial está en el hígado. En algunas realizaciones, el sujeto padece cirrosis del hígado debida a hepatitis. En algunas realizaciones, el sujeto padece cirrosis del hígado debido a EHNA.

- 25 En algunas realizaciones, se proporciona un procedimiento para efectuar la regresión de la fibrosis que comprende administrar a un sujeto necesitado de ello una cantidad eficaz de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria, efectuando así la regresión de la fibrosis.

- 30 En algunas realizaciones, se proporciona un procedimiento para la reducción del tejido cicatricial en un sujeto que comprende la etapa de administrar al sujeto una cantidad eficaz de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria para reducir el tejido cicatricial. En algunas realizaciones, se proporciona un procedimiento para reducir el tejido cicatricial en un sujeto que comprende la etapa de aplicar por vía tópica al tejido cicatricial una cantidad eficaz de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria para reducir el tejido cicatricial.

- 35 En algunas realizaciones, se proporciona un procedimiento para mejorar la apariencia del tejido cicatricial que comprende la etapa de aplicar por vía tópica al tejido cicatricial una cantidad eficaz de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria para mejorar la apariencia del tejido cicatricial.

- 40 En algunas realizaciones, se proporciona un procedimiento de tratamiento de un sujeto que padece fibrosis de pulmón que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria, tratando así la fibrosis de pulmón. En algunas realizaciones, el sujeto padece fibrosis de pulmón intersticial (FPI). En algunas realizaciones, el sujeto padece neumonitis por radiación que conduce a fibrosis pulmonar. En algunas realizaciones, el sujeto padece fibrosis de pulmón inducida por fármacos.

- 45 En algunas realizaciones, se proporciona el uso de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria para la fabricación de un medicamento para tratar fibrosis de pulmón. En algunas realizaciones, la fibrosis de pulmón es FPI. En algunas realizaciones, la fibrosis de pulmón es una fibrosis de pulmón inducida por fármacos o radiación.

- 50 En un aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas que incluyen una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se describe en la presente memoria en un portador farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, la formulación farmacéutica incluye, o implica, un sistema de suministro adecuado para suministrar moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) a un individuo tal como un paciente, por ejemplo sistemas de suministro descritos con más detalle a continuación.

- 55 En un aspecto relacionado, se proporcionan composiciones o kits que incluyen una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) empaquetada para uso por un paciente. El paquete puede estar etiquetado o incluir una etiqueta o prospecto de paquete que indica el contenido del paquete y proporciona cierta información sobre cómo la molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) debería o puede usarse por un paciente, por ejemplo, la etiqueta puede incluir información de dosificación y/o indicaciones para uso. En ciertas realizaciones, el contenido de la etiqueta portará un aviso en una forma prescrita por una agencia gubernamental, por ejemplo la Dirección federal de fármacos y alimentos de Estados Unidos. En ciertas realizaciones, la etiqueta puede indicar que la molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) es adecuada para uso en el tratamiento de un paciente que padece una enfermedad asociada a hsp47; por ejemplo, la etiqueta puede indicar que la molécula de ácido

nucleico (p.ej., una molécula de ANic) es adecuada para uso en el tratamiento de fibroides; o por ejemplo la etiqueta puede indicar que la molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) es adecuada para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo consistente en fibrosis, fibrosis hepática, cirrosis, fibrosis pulmonar, fibrosis renal, fibrosis peritoneal, daño hepático crónico y fibrillogénesis.

Como se usan en la presente memoria, los términos “proteína de choque térmico 47” o “hsp47” o “HSP47” se usan intercambiamente y hacen referencia a cualquier proteína de choque térmico 47, péptido o polipéptido que tenga cualquier actividad de proteína hsp47. La proteína de choque térmico 47 es un inhibidor de serinproteasa (serpina) también conocido, por ejemplo, como inhibidor de serpinpeptidasa, clado H, miembro 1 (SERPINH1), SERPINH2, proteína de unión a colágeno 1 (CBP1), CBP2, gp46; proteína transactivada por arsénico 3 (AsTP3); HSP47; gen inductor de la proliferación 14 (PIG14); PPRM; antígeno A-47 de artritis reumatoide (RA-A47); coligina 1 y coligina 2. En ciertas realizaciones preferidas, “hsp47” hace referencia a hsp47 humana. La proteína de choque térmico 47 (o más particularmente hsp47 humana) puede tener una secuencia aminoacídica que es la misma, o sustancialmente la misma, que la SEQ ID NO. 2 (FIG. 7).

Como se usa en la presente memoria, el término “secuencia nucleotídica que codifica hsp47” significa una secuencia nucleotídica que codifica una proteína hsp47 o porción de la misma. El término “secuencia nucleotídica que codifica hsp47” pretende incluir también secuencias de codificación de hsp47 tales como isoformas de hsp47, genes de hsp47 mutantes, variantes de corte y empalme de genes de hsp47 y polimorfismos génicos de hsp47. Una secuencia de ácido nucleico que codifica hsp47 incluye secuencias de ARNm que codifican hsp47, a las que puede hacerse referencia también como “ARNm de hsp47”. Es una secuencia ejemplar de ARNm de hsp47 la SEQ ID. NO. 1.

Como se usan en la presente memoria, los términos “molécula de ácido nucleico” o “ácido nucleico” se usan intercambiamente y hacen referencia a un oligonucleótido, nucleótido o polinucleótido. Las variaciones de “molécula de ácido nucleico” se describen con más detalle en la presente memoria. Una molécula de ácido nucleico engloba tanto moléculas de ácido nucleico modificadas como moléculas de ácido nucleico no modificadas como se describen en la presente memoria. Una molécula de ácido nucleico puede incluir desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos, nucleótidos modificados o análogos nucleotídicos en cualquier combinación.

Como se usa en la presente memoria, el término “nucleótido” hace referencia a un resto químico que tiene un azúcar (o un análogo del mismo o un azúcar modificado), una base nucleotídica (o un análogo de la misma o una base modificada) y un grupo fosfato (o análogo del mismo o un grupo fosfato modificado). Un nucleótido engloba tanto nucleótidos modificados como nucleótidos no modificados como se describen en la presente memoria. Como se usa en la presente memoria, los nucleótidos pueden incluir desoxirribonucleótidos (p.ej., desoxirribonucleótidos no modificados), ribonucleótidos (p.ej., ribonucleótidos no modificados) y análogos nucleotídicos modificados incluyendo, entre otros, ácidos nucleicos bloqueados y ácidos nucleicos no bloqueados, ácidos peptidonucleicos, L-nucleótidos (a los que se hace también referencia como nucleótidos espejo), ácido nucleico con puente de etileno (ANE), arabinósido, PACE, nucleótidos con un azúcar de 6 carbonos así como análogos nucleotídicos (incluyendo nucleótidos abásicos) a menudo no considerados nucleótidos. En algunas realizaciones, los nucleótidos pueden estar modificados en el azúcar, base nucleotídica y/o en el grupo fosfato con cualquier modificación conocida en la materia, tales como las modificaciones descritas en la presente memoria. Un “polinucleótido” u “oligonucleótido” como se usa en la presente memoria hace referencia a una cadena de nucleótidos ligados; los polinucleótidos y oligonucleótidos pueden tener igualmente modificaciones en el azúcar nucleotídico, bases nucleotídicas y esqueletos de fosfato como es bien conocido en la materia y/o se da a conocer en la presente memoria.

Como se usa en la presente memoria, el término “ácido nucleico interferente corto”, “ANic” o “molécula de ácido nucleico interferente corto” hace referencia a cualquier molécula de ácido nucleico capaz de modular la expresión génica o la replicación vírica. Preferiblemente, el ANic inhibe o regula negativamente la expresión génica o replicación vírica. Los ANic incluyen sin limitación moléculas de ácido nucleico que son capaces de mediar la iARN específica de secuencia, por ejemplo ARN interferente corto (ARNic), ARN bicatenario (ARNbc), microARN (miARN), ARN de horquilla corto (ARNhc), oligonucleótido interferente corto, ácido nucleico interferente corto, oligonucleótido interferente corto modificado, ARNic modificado químicamente, ARN silenciador génico postranscripcional (ARNsgps) y otros. Como se usa en la presente memoria, “ácido nucleico interferente corto”, “ANic” o “molécula de ácido nucleico interferente corto” tiene el significado descrito con más detalle en otro lugar de la presente memoria.

Como se usa en la presente memoria, el término “complementario” significa que un ácido nucleico puede formar un enlace o enlaces de hidrógeno con otra secuencia de ácido nucleico por Watson-Crick tradicional u otros tipos no tradicionales. Con referencia a las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria, la energía libre de unión para una molécula de ácido nucleico con su secuencia complementaria es suficiente para permitir que prosiga la función relevante del ácido nucleico, p.ej., la actividad de iARN. La determinación de las energías libres de unión para moléculas de ácido nucleico es bien conocida en la materia (véanse, p.ej., Turner *et al.*, 1987, *CSH Symp. Quant. Biol.* LII pág. 123-133; Frier *et al.*, 1986, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 83: 9373-9377; Turner *et al.*, 1987, *J. Am. Chem. Soc.* 109: 3783-3785). El porcentaje de complementariedad indica el porcentaje de residuos contiguos en una molécula de ácido nucleico que pueden formar enlaces de hidrógeno (p.ej., apareamiento de bases de Watson-Crick) con una segunda secuencia de ácido nucleico (p.ej., 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos de un total de 10

nucleótidos en el primer oligonucleótido en que se esté basando apareado con una segunda secuencia de ácido nucleico que tiene 10 nucleótidos que representan un 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % y 100 % de complementariedad respectivamente). "Totalmente complementario" significa que todos los residuos contiguos de una secuencia de ácido nucleico formarán enlace de hidrógeno con el mismo número de residuos contiguos en una segunda secuencia de ácido nucleico. En una realización, una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria incluye de aproximadamente 15 a aproximadamente 35 o más (p.ej., aproximadamente 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 o 35 o más) nucleótidos que son complementarios de una o más moléculas de ácido nucleico diana o una porción de las mismas.

Como se usa en la presente memoria, el término "región codificante" hace referencia a una secuencia nucleotídica de una molécula de ANic complementaria (parcial o totalmente) de una región anticodificante de la molécula de ANic. La hebra codificante de una molécula de ANic puede incluir una secuencia de ácido nucleico que tiene homología con una secuencia de ácido nucleico diana. Como se usa en la presente memoria, "hebra codificante" hace referencia a una molécula de ácido nucleico que incluye una región codificante y puede incluir también nucleótidos adicionales.

Como se usa en la presente memoria, el término "región anticodificante" hace referencia a una secuencia nucleotídica de una molécula de ANic complementaria (parcial o totalmente) de una secuencia de ácido nucleico diana. La hebra anticodificante de una molécula de ANic puede incluir opcionalmente una secuencia de ácido nucleico complementaria de una región codificante de la molécula de ANic. Como se usa en la presente memoria, "hebra anticodificante" hace referencia a una molécula de ácido nucleico que incluye una región anticodificante y puede incluir también nucleótidos adicionales.

Como se usa en la presente memoria, el término "ARN" hace referencia a una molécula que incluye al menos un residuo ribonucleotídico.

Como se usa en la presente memoria, el término "región de dúplex" hace referencia a la región en dos oligonucleótidos complementarios o sustancialmente complementarios que forma pares de bases entre sí, por apareamiento de bases de Watson-Crick o de cualquier otra manera que permita un dúplex entre hebras oligonucleotídicas que son complementarias o sustancialmente complementarias. Por ejemplo, una hebra oligonucleotídica que tiene 21 unidades nucleotídicas puede aparearse por bases con otro oligonucleótido de 21 unidades nucleotídicas aunque solo 19 bases en cada hebra sean complementarias o sustancialmente complementarias, de tal modo que la "región de dúplex" consiste en 19 pares de bases. Los pares de bases restantes pueden existir, por ejemplo, como salientes 5' y 3'. Adicionalmente, en la región de dúplex, no se requiere un 100 % de complementariedad, es admisible una complementariedad sustancial en la región de dúplex. Complementariedad sustancial hace referencia a una complementariedad entre las hebras tal que sean capaces de reasociarse en condiciones biológicas. As técnicas para determinar empíricamente si dos hebras son capaces de reasociarse en condiciones biológicas son bien conocidas en la materia. Como alternativa, pueden sintetizarse dos hebras y añadirse conjuntamente en condiciones biológicas para determinar si se reasocian entre sí.

Como se usa en la presente memoria, el término "análogo nucleotídico sin apareamiento" significa un análogo nucleotídico que incluye un resto sin apareamiento de bases incluyendo, pero sin limitación: 6-desaminoadenosina (nebularina), 4-Me-indol, 3-nitropirrol, 5-nitroindol, Ds, Pa, N3-Me ribo U, N3-Me riboT, N3-Me dC, N3-Me-dT, N1-Me-dG, N1-Me-dA, N3-etil-dC y N3-Me dC. En algunas realizaciones, el análogo nucleotídico sin apareamiento de bases es un ribonucleótido. En otras realizaciones, es un desoxirribonucleótido.

Como se usa en la presente memoria, el término "grupo funcional terminal" incluye sin limitación grupos halógeno, alcohol, amina, carboxílico, éster, amida, aldehído, cetona y éter.

Puede hacerse referencia también a menudo en la presente memoria y en la materia a un "nucleótido abásico" o "análogo nucleotídico abásico", como se usa en la presente memoria, como un seudonucleótido o un resto no convencional. Aunque un nucleótido es una unidad monomérica de ácido nucleico consistente generalmente en un azúcar de ribosa o desoxirribosa, un fosfato y una base (adenina, guanina, timina o citosina en ADN; adenina, guanina, uracilo o citosina en ARN), un nucleótido abásico o seudonucleótido carece de base, y por tanto no es estrictamente un nucleótido como se usa generalmente el término en la materia. Los restos de desoxirribosa abásicos incluyen, por ejemplo, 3'-fosfato de desoxirribosa abásico; 3-fosfato de 1,2-didesoxi-D-ribofuranosa y 3-fosfato de 1,4-anhidro-2-desoxi-D-ribitol. Los restos de desoxirribosa abásicos invertidos incluyen desoxirriboabásico invertido y 5'-fosfato de 3',5'-desoxiabásico invertido.

El término "resto de caperuza" (z") como se usa en la presente memoria incluye un resto que puede estar ligado covalentemente con el extremo 5' de (N'y e incluye un resto de ribosa abásico, un resto de desoxirribosa abásico, modificaciones de restos de ribosa abásica y desoxirribosa abásica incluyendo modificaciones de 2'O-alquilo; restos de ribosa abásica y desoxirribosa abásica invertidos y modificaciones de los mismos; C6-imino-Pi; un nucleótido espejo que incluye L-ADN y L-ARN; 5'OMe-nucleótidos y análogos nucleotídicos que incluyen 4',5'-metilenonucleótido; 1-(β-D-eritrofuranosil)nucleótido; 4'-tionucleótido, nucleótido carbocíclico; fosfato de 5'-aminoalquilo; fosfato de 1,3-diamino-2-propilo, fosfato de 3-aminopropilo; fosfato de 6-aminohexilo; fosfato de 12-

aminododecilo; fosfato de hidroxipropilo; 1,5-anhidrohexitolnucleótido; α -nucleótido; treopentofuranosilnucleótido; 3',4'-seconucleótido acíclico; 3,4-dihidroxibutylnucleótido; 3,5-dihidroxipentilnucleótido, resto abásico 5'-5'-invertido; fosfato de 1,4-butanodiol; 5-amino y restos metilfosfonato y 5'-mercapto de puente o no de puente.

Ciertos restos de caperuza pueden ser restos de ribosa abásicos o desoxirribosa abásicos; restos de ribosa abásicos invertidos o de desoxirribosa abásicos; C6-amino-Pi; un nucleótido espejo que incluye L-ADN y L-ARN. Las moléculas de ácido nucleico como se dan a conocer en la presente memoria pueden sintetizarse usando uno o más nucleótidos invertidos, por ejemplo timidina invertida o adenina invertida (por ejemplo, véase Takei, *et al.*, 2002. JBC 277 (26) 23800-06).

El término "resto no convencional", como se usa en la presente memoria, hace referencia a restos no nucleotídicos que incluyen un resto abásico, un resto abásico invertido, un resto hidrocarburo (alquilo) y derivados del mismo, e incluye adicionalmente un desoxirribonucleótido, un desoxirribonucleótido modificado, un nucleótido espejo (L-ADN o L-ARN), un análogo nucleotídico sin apareamiento de bases y un nucleótido unido a un nucleótido adyacente por un enlace fosfato internucleotídico 2'-5'; ácidos nucleicos de puente que incluyen ANB y ácidos nucleicos con puente de etileno, nucleótidos de ligamiento modificado (p.ej. PACE) y de base modificada así como restos adicionales dados a conocer explícitamente en la presente memoria como restos no convencionales.

Como se usan en la presente memoria, los términos "inhibir", "regular negativamente" o "reducir" con respecto a la expresión génica significan que la expresión del gen, o el nivel de moléculas de ARN o moléculas de ARN equivalentes que codifican una o más proteínas o subunidades proteicas (p.ej., ARNm), o actividad de una o más proteínas o subunidades proteicas, se reduce por debajo de lo observado en ausencia de un factor inhibidor (tal como una molécula de ácido nucleico, p.ej., un ANic, por ejemplo que tiene rasgos estructurales como se describen en la presente memoria); por ejemplo la expresión puede reducirse a un 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %, 5 % o menos que la observada en ausencia de un inhibidor.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIG. 1 es un gráfico de barras que muestra el efecto de ANic de GFP sobre diversas líneas celulares indicadoras. Las líneas celulares se establecieron por inducción lentivírica de un constructo de ADNc-GFP de HSP47 humana o ADNc-GFP de GP46 de rata en HEK293, línea celular de fibrosarcoma humana HT1080, línea humana de HSC hTERT o línea celular NRK. Se introdujo ANic de control negativo o ANic contra GFP en las células y se midió la fluorescencia de GFP. Los resultados mostraron que el ANic contra GFP desactiva génicamente la fluorescencia en diferentes grados en diferentes líneas celulares. Se seleccionaron las líneas celulares 293_HSP47-GFP y 293_GP46-GFP para cribado de siHsp47 debido a su facilidad de transfección y sensibilidad ante la desactivación génica de la fluorescencia.

La FIG. 2 es una serie de gráficos de barras que muestran la citotoxicidad y eficacia de la desactivación génica de diversos siHsp47 en las líneas celulares 293_HSP47-GFP y 293_GP46-GFP. El resultado mostraba que siHsp47-C, siHsp47-2 y siHsp47-2d desactivan génicamente de forma eficaz tanto la HSP4 humana como la GP46 de rata (el homólogo de hsp47 humana) sin citotoxicidad sustancial. siGp46A frente a GP46 no desactiva génicamente la HSP47 humana. Adicionalmente, los siHsp47 recién diseñados superaban a siGp46A en la desactivación génica de GP46 de rata.

La FIG. 3 es un gráfico de barras que muestra el efecto de desactivación génica de diversos siHsp47 sobre ARNm de hsp47, medido por PCRC TaqMan® usando la línea celular humana de HSC hTERT. El eje Y representa el nivel de ARNm restante de hsp47. HSP47-C era el más eficaz entre todos los ANic de hsp47 ensayados.

La FIG. 4 es un gráfico de barras que muestra el efecto de diferentes ANic de hsp47 sobre la expresión de colágeno I en células hTERT. Se midieron los niveles de ARNm de colágeno I mediante PCR cuantitativa instantánea usando la sonda TaqMan®. El eje Y representa el nivel de expresión de ARNm restante de colágeno I. El resultado mostraba que el nivel de ARNm de colágeno I se reduce significativamente en las células tratadas con algunos de los candidatos (siHsp47-2, siHsp47-2d y su combinación con siHsp47-1).

La FIG. 5 muestra la disminución de las zonas fibróticas del hígado en animales tratados con siHSP47.

La FIG. 6 es una secuencia de ácido nucleico ejemplar de ADNc de ARNm de hsp47 humana (SEQ ID NO: 1; basado en el ADNc dado a conocer en el número de acceso a GenBank: NM_001235).

La FIG. 7 es una secuencia aminoacídica ejemplar de hsp47 humana (SEQ ID NO: 2).

La FIG. 8 es una secuencia de ácido nucleico codificante de proteína de ADNc de hsp47 humana (SEQ ID NO: 59), que corresponde a los nucleótidos 230-1486 de SEQ ID NO: 1.

Las FIG. 9A-9I muestran la estabilidad plasmática de Compuesto_1, Compuesto_2, Compuesto_3, Compuesto_4, Compuesto_5, Compuesto_6, Compuesto_7, Compuesto_8 y Compuesto_9, respectivamente, como se detecta por tinción con bromuro de etidio.

Las FIG. 10A-10I muestran la actividad en la diana/fuera de la diana de Compuesto_1, Compuesto_2, Compuesto_3, Compuesto_4, Compuesto_5, Compuesto_6, Compuesto_7, Compuesto_8 y Compuesto_9, respectivamente. AS_CM muestra la actividad de la hebra anticodificante del compuesto frente a un plásmido que comprende un inserto totalmente coincidente; AS_SM muestra la actividad de la hebra anticodificante del compuesto frente a un plásmido que comprende un inserto de secuencia de semilla; S_CM muestra la actividad de la hebra codificante del compuesto frente a un plásmido que comprende un inserto totalmente coincidente. Se efectuaron todos los ensayos en células humanas, excepto para los datos mostrados en la FIG. 10F, que se efectuó en células REF52 de rata.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Interferencia de ARN y moléculas de ácido nucleico ANic

La interferencia de ARN hace referencia al proceso de silenciamiento génico postranscripcional específico de secuencia en animales mediado por ARN interferentes cortos (ARNic) (Zamore *et al.*, 2000, *Cell*, 101, 25-33; Fire *et al.*, 1998, *Nature*, 391, 806; Hamilton *et al.*, 1999, *Science*, 286, 950-951; Lin *et al.*, 1999, *Nature*, 402, 128-129; Sharp, 1999, *Genes & Dev.*, 13: 139-141 y Strauss, 1999, *Science*, 286, 886). Se hace referencia a menudo al correspondiente proceso en plantas (Heifetz *et al.*, publicación internacional PCT nº WO 99/61631) como silenciamiento génico postranscripcional (SGPT) o silenciamiento de ARN. Se cree que el proceso de silenciamiento génico postranscripcional es un mecanismo de defensa celular conservado evolutivamente usado para prevenir la expresión de genes ajenos (Fire *et al.*, 1999, *Trends Genet.*, 15, 358). Dicha protección de la expresión de genes ajenos puede haber evolucionado en respuesta a la producción de ARN bicatenarios (ARNbc) derivados de infección vírica o de la integración aleatoria de elementos de transposón en un genoma hospedador a través de una respuesta celular que destruye específicamente el ARN monocatenario homólogo o ARN genómico vírico. La presencia de ARNbc en células desencadena la respuesta de iARN a través de un mecanismo que ha de caracterizarse totalmente todavía. Este mecanismo parece ser diferente de otros mecanismos conocidos que implican ribonucleasas específicas de ARN bicatenario, tales como la respuesta de interferón que es el resultado de la activación mediada por ARNbc de la proteína cinasa PKR y la 2',5'-oligoadenilato sintetasa, dando como resultado una escisión no específica de ARNm por la ribonucleasa L (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. nº 6.107.094; 5.898.031; Clemens *et al.*, 1997, *J. Interferon & Cytokine Res.*, 17, 503-524; Adah *et al.*, 2001, *Curr. Med. Chem.*, 8, 1189).

La presencia de ARNbc largos en células estimula la actividad de una enzima ribonucleasa III a la que se hace referencia como Dicer (Bass, 2000, *Cell*, 101, 235; Zamore *et al.*, 2000, *Cell*, 101, 25-33; Hammond *et al.*, 2000, *Nature*, 404, 293). Dicer está implicada en el procesamiento del ARNbc en trozos cortos de ARNbc conocidos como ARN interferentes cortos (ARNic) (Zamore *et al.*, 2000, *Cell*, 101, 25-33; Bass, 2000, *Cell*, 101, 235; Bernstein *et al.*, 2001, *Nature*, 409, 363). Los ARN interferentes cortos derivados de la actividad de Dicer son típicamente de aproximadamente 21 a aproximadamente 23 nucleótidos de longitud e incluyen dúplex de aproximadamente 19 pares de bases (Zamore *et al.*, 2000, *Cell*, 101, 25-33; Elbashir *et al.*, 2001, *Genes Dev.*, 15, 188). Dicer se ha implicado también en la extracción de ARN temporales pequeños de 21 y 22 nucleótidos (ARNtp) de ARN precursor de estructura conservada que están implicados en el control traduccional (Hutvagner *et al.*, 2001, *Science*, 293, 834). La respuesta de iARN presenta también un complejo de endonucleasa, al que se hace referencia comúnmente como complejo silenciador inducido por ARN (RISC), que media la escisión de ARN monocatenario que tiene complementariedad de secuencia con la hebra anticodificante de dúplex de ARNic. La escisión del ARN diana tiene lugar en medio de la región complementaria de la hebra anticodificante del dúplex de ARNic (Elbashir *et al.*, 2001, *Genes Dev.*, 15, 188).

La iARN se ha estudiado en una variedad de sistemas. Fire *et al.*, 1998, *Nature*, 391, 806, fueron los primeros en observar iARN en *C. elegans*. Bahramian y Zarbl, 1999, *Molecular and Cellular Biology*, 19, 274-283 y Wianny y Goetz, 1999, *Nature Cell Biol.*, 2, 70, describen iARN mediada por ARNbc en sistemas de mamíferos. Hammond *et al.*, 2000, *Nature*, 404, 293, describen iARN en células de *Drosophila* transfectadas con ARNbc. Elbashir *et al.*, 2001, *Nature*, 411, 494 y Tuschl *et al.*, publicación internacional PCT nº WO 01/75164, describen iARN inducida por la introducción de dúplex de ARN de 21 nucleótidos sintéticos en células de mamífero cultivadas, incluyendo células de riñón embrionario humanas y HeLa. Recientes trabajos en lisados embrionarios de *Drosophila* (Elbashir *et al.*, 2001, *EMBO J.*, 20, 6877 y Tuschl *et al.*, publicación internacional PCT nº WO 01/75164) han revelado ciertos requisitos de la longitud, estructura, composición química y secuencia de ARNic que son esenciales para mediar una actividad de iARN eficaz.

Las moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, que tienen rasgos estructurales como se dan a conocer en la presente memoria) pueden inhibir o regular negativamente la expresión génica o la replicación vírica mediante la interferencia de ARN "iARN" o silenciamiento génico de manera específica de secuencia; véanse, p.ej., Zamore *et al.*, 2000, *Cell*, 101, 25-33; Bass, 2001, *Nature*, 411, 428-429; Elbashir *et al.*, 2001, *Nature*, 411, 494-498 y Kreutzer

et al., publicación internacional PCT n° WO 00/44895; Zernicka-Goetz *et al.*, publicación internacional PCT n° WO 01/36646; Fire, publicación internacional PCT n° WO 99/32619; Plaetinck *et al.*, publicación internacional PCT n° WO 00/01846; Mello y Fire, publicación internacional PCT n° WO 01/29058; Deschamps-Depaillette, publicación internacional PCT n° WO 99/07409 y Li *et al.*, publicación internacional PCT n° WO 00/44914; Allshire, 2002, *Science*, 297, 1818-1819; Volpe *et al.*, 2002, *Science*, 297, 1833-1837; Jenuwein, 2002, *Science*, 297, 2215-2218 y Hall *et al.*, 2002, *Science*, 297, 2232-2237; Hutvagner y Zamore, 2002, *Science*, 297, 2056-60; McManus *et al.*, 2002, *RNA*, 8, 842-850; Reinhart *et al.*, 2002, *Gene & Dev.*, 16, 1616-1626 y Reinhart y Bartel, 2002, *Science*, 297, 1831).

Una molécula de ácido nucleico ANic puede ensamblarse a partir de dos hebras polinucleotídicas separadas, en que una hebra es la hebra codificante y la otra es la hebra anticodificante, en la que las hebras anticodificante y codificante son autocomplementarias (concretamente, cada hebra incluye una secuencia nucleotídica que es complementaria de la secuencia nucleotídica de la otra hebra); tal como cuando la hebra anticodificante y hebra codificante forman un dúplex o estructura bicatenaria que tiene cualquier longitud y estructura como se describe en la presente memoria para moléculas de ácido nucleico como se proporcionan, por ejemplo, en las que la región bicatenaria (región de dúplex) es de aproximadamente 15 a aproximadamente 49 (p.ej., de aproximadamente 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 o 49 pares de bases); la hebra anticodificante incluye una secuencia nucleotídica que es complementaria de la secuencia nucleotídica en una molécula de ácido nucleico diana (concretamente, ARNm de hsp47) o una porción de la misma y la hebra codificante incluye una secuencia nucleotídica correspondiente a la secuencia de ácido nucleico diana o una porción de la misma (p.ej., de aproximadamente 17 a aproximadamente 49 o más nucleótidos de las moléculas de ácido nucleico de la presente memoria son complementarias del ácido nucleico diana o una porción del mismo).

En ciertos aspectos y realizaciones, una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) proporcionada en la presente memoria puede ser una molécula de "longitud de RISC" o puede ser un sustrato de Dicer como se describe con más detalle a continuación.

Una molécula de ácido nucleico ANic puede incluir secuencias o regiones codificantes y anticodificantes separadas en que las regiones codificantes y anticodificantes se ligan covalentemente por moléculas ligadoras nucleotídicas o no nucleotídicas como es conocido en la materia, o se ligan como alternativa no covalentemente mediante interacciones iónicas, enlaces de hidrógeno, interacciones de van der Waals, interacciones hidrófobas y/o interacciones de apilado. Las moléculas de ácido nucleico pueden incluir una secuencia de ácido nucleico que es complementaria de la secuencia nucleotídica de un gen diana. Las moléculas de ácido nucleico pueden interactuar con la secuencia nucleotídica de un gen diana de manera que cause la inhibición de la expresión del gen diana.

Como alternativa, se ensambla una molécula de ácido nucleico ANic a partir de un solo polinucleótido, en que las regiones codificante y anticodificante autocomplementarias de las moléculas de ácido nucleico se ligan mediante un ligador o ligadores basados en ácido nucleico o no en ácido nucleico, concretamente la hebra anticodificante y la hebra codificante son parte de un solo polinucleótido que tiene una región anticodificante y una región codificante que se pliegan formando una región de dúplex (por ejemplo, formando una estructura de "horquilla" como es bien conocido en la materia). Dichas moléculas de ácido nucleico ANic pueden ser un polinucleótido con un dúplex, un dúplex asimétrico, estructura secundaria de horquilla u horquilla asimétrica que tiene regiones codificantes y anticodificantes autocomplementarias, en la que la región anticodificante incluye una secuencia nucleotídica que es complementaria de la secuencia nucleotídica de una molécula de ácido nucleico diana separada o una porción de la misma, y la región codificante tiene una secuencia nucleotídica correspondiente a la secuencia de ácido nucleico diana (p.ej., una secuencia de ARNm de hsp47). Dichas moléculas de ácido nucleico ANic pueden ser un polinucleótido monocatenario circular que tiene dos o más estructuras de bucle y un tallo que comprende regiones codificantes y anticodificantes autocomplementarias, en las que la región anticodificante incluye una secuencia nucleotídica que es complementaria de la secuencia nucleotídica de una molécula de ácido nucleico diana o una porción de la misma y la región codificante tiene una secuencia nucleotídica correspondiente a la secuencia de ácido nucleico diana o una porción de la misma, y en las que el polinucleótido circular puede procesarse *in vivo* o *in vitro* generando una molécula de ácido nucleico activa capaz de mediar la iARN.

Se usa la siguiente nomenclatura a menudo en la materia para describir las longitudes y salientes de moléculas de ANic, y puede usarse a lo largo de la memoria descriptiva y los ejemplos. Los nombres dados a los dúplex indican la longitud de los oligómeros y la presencia o ausencia de salientes. Por ejemplo, un dúplex "21+2" contiene dos hebras de ácido nucleico, siendo ambas de 21 nucleótidos de longitud, también denominado un dúplex de ARNic de 21 unidades o un ácido nucleico de 21 unidades, que tiene un saliente 3' de 2 nucleótidos. Un diseño "21-2" hace referencia a un dúplex de ácido nucleico de 21 unidades con un saliente 5' de 2 nucleótidos. Un diseño 21-0 es un dúplex de ácido nucleico de 21 unidades sin salientes (romo). Un "21+2UU" es un dúplex de 21 unidades con un saliente 3' de 2 nucleótidos y los 2 nucleótidos terminales en los extremos 3' son ambos residuos de U (que pueden dar como resultado desapareamiento con la secuencia diana). La nomenclatura anteriormente mencionada puede aplicarse a moléculas de ANic de diversas longitudes de hebras, dúplex y salientes (tales como 19-0, 21+2, 27+2 y similares). En una nomenclatura alternativa, pero similar, un "25/27" es un dúplex asimétrico que tiene una hebra

codificante de 25 bases y una hebra anticodificante de 27 bases con un saliente 3' de 2 nucleótidos. Un "27/25" es un dúplex asimétrico que tiene una hebra codificante de 27 bases y una hebra anticodificante de 25 bases.

Modificaciones químicas

En ciertos aspectos y realizaciones, las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) como se proporcionan en la presente memoria incluyen una o más modificaciones (o modificaciones químicas). En ciertas realizaciones, dichas modificaciones incluyen cualquier cambio en una molécula de ácido nucleico o polinucleótido que haría a la molécula diferente de un ribonucleótido o molécula de ARN estándar (concretamente, que incluye restos de adenosina, citosina, uracilo o guanosina estándares); a los que puede hacerse referencia como un ribonucleótido "no modificado" o ácido ribonucleico no modificado. Puede hacerse referencia a las bases y polinucleótidos de ADN tradicionales que tienen un 2'-desoxiazúcar representado por restos de adenosina, citosina, timina o guanosina como un "desoxirribonucleótido no modificado" o "ácido desoxirribonucleico no modificado", por consiguiente, el término "nucleótido no modificado" o "ácido nucleico no modificado" como se usa en la presente memoria hace referencia a un "ribonucleótido no modificado" o "ácido ribonucleico no modificado", a menos que haya una indicación clara de lo contrario. Dichas modificaciones pueden ser en el azúcar nucleotídico, base nucleotídica, grupo fosfato nucleotídico y/o el esqueleto de fosfato de un polinucleótido.

En ciertas realizaciones, pueden usarse modificaciones como se dan a conocer en la presente memoria para aumentar la actividad de iARN de una molécula y/o para aumentar la estabilidad *in vivo* de las moléculas, particularmente la estabilidad sérica, y/o para aumentar la biodisponibilidad de las moléculas. Los ejemplos no limitantes de modificaciones incluyen, sin limitación, ligamientos internucleotídicos o internucleosídicos; desoxinucleótidos o didesoxirribonucleótidos en cualquier posición y hebra de la molécula de ácido nucleico; ácido nucleico (p.ej., ácido ribonucleico) con una modificación en la posición 2' seleccionada preferiblemente de amino, fluoro, metoxilo, alcoxilo y alquilo; 2'-desoxirribonucleótidos, 2'-O-metilribonucleótidos, 2'-desoxi-2'-fluororribonucleótidos, nucleótidos de "base universal", nucleótidos "acíclicos", 5-C-metilnucleótidos, grupo biotina y glicerilo terminal y/o la incorporación de residuos desoxiabásicos invertidos, moléculas estéricamente impedidas tales como moléculas fluorescentes y similares. Otros modificadores nucleotídicos podrían incluir 3'-desoxiadenosina (cordicepina), 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT), 2',3'-didesoxiinosina (ddl), 2',3'-didesoxi-3'-tiacitidina (3TC), 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina (d4T) y los nucleótidos monofosfatados de 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT), 2',3'-didesoxi-3'-tiacitidina (3TC) y 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina (d4T). Se describen con más detalle a continuación detalles adicionales sobre diversas modificaciones.

Los nucleótidos modificados incluyen aquellos que tienen una conformación Northern (p.ej., ciclo de seudorrotación Northern, véase por ejemplo Saenger, "Principles of Nucleic Acid Structure", Springer-Verlag ed., 1984). Los ejemplos no limitantes de nucleótidos que tienen configuración Northern incluyen nucleótidos de ácido nucleico bloqueado (ANB) (p.ej., 2'-O,4'-C-metilen-(D-ribofuranosil)nucleótidos); 2'-metoxietoxinucleótidos (MOE); 2'-metiltioetil-, 2'-desoxi-2'-fluoronucleótidos, 2'-desoxi-2'-cloronucleótidos, 2'-azidonucleótidos y 2'-O-metilnucleótidos. Los ácidos nucleicos bloqueados o ANB se describen, por ejemplo, en Elman *et al.*, 2005; Kurreck *et al.*, 2002; Crinelli *et al.*, 2002; Braasch y Corey, 2001; Bondensgaard *et al.*, 2000; Wahlestedt *et al.*, 2000 y las publicaciones internacionales de patente nº WO 00/47599, WO 99/14226, y WO 98/39352 y WO 2004/083430. En una realización, se incorpora un ANB a extremo 5' de la hebra codificante.

Las modificaciones químicas incluyen también ácidos nucleicos no bloqueados, o ANNB, que son análogos acíclicos no nucleotídicos en que no está presente el enlace C2'-C3' (aunque los ANNB no son verdaderamente nucleótidos, se incluyen expresamente en el alcance de los nucleótidos "modificados" o ácidos nucleicos modificados como se contemplan en la presente memoria). En realizaciones particulares, las moléculas de ácido nucleico con un saliente pueden modificarse para tener ANNB en las posiciones de saliente (concretamente, saliente de 2 nucleótidos). En otras realizaciones, se incluyen ANNB en los extremos 3' o 5'. Un ANNB puede localizarse en cualquier lugar a lo largo de una hebra de ácido nucleico, concretamente en la posición 7. Las moléculas de ácido nucleico pueden contener uno o más ANNB. Se dan a conocer ANNB ejemplares en "Nucleic Acids Symposium Series" nº 52 pág. 133-134 (2008). En ciertas realizaciones, una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se describe en la presente memoria incluye uno o más ANNB o un ANNB. En algunas realizaciones, una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se describe en la presente memoria que tiene un saliente 3' incluye uno o más ANNB en el saliente 3'. En algunas realizaciones, una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se describe en la presente memoria incluye un ANNB (por ejemplo un ANNB) en la hebra anticodificante; por ejemplo en posición 6 o posición 7 de la hebra anticodificante. Las modificaciones químicas incluyen también análogos nucleotídicos sin apareamiento, por ejemplo como se dan a conocer en la presente memoria. Las modificaciones químicas incluyen adicionalmente restos no convencionales como se dan a conocer en la presente memoria.

Las modificaciones químicas incluyen también modificaciones terminales en la parte 5' y/o 3' de los oligonucleótidos y son también conocidas como restos de caperuza. Dichas modificaciones terminales se seleccionan de un nucleótido, un nucleótido modificado, un lípido, un péptido y un azúcar.

Las modificaciones químicas incluyen también “análogos nucleotídicos de anillo de 6 miembros” de 6 miembros. Se dan a conocer ejemplos de análogos nucleotídicos de anillo de 6 miembros en Allart, *et al.* (Nucleosides & Nucleotides, 1998, 17: 1523-1526; y Pérez-Pérez, *et al.*, 1996, Bioorg. and Medicinal Chem Letters 6: 1457-1460). Se dan a conocer oligonucleótidos que incluyen análogos nucleotídicos de anillo de 6 miembros que incluyen monómeros nucleotídicos de hexitol y alritol en la publicación de solicitud de patente internacional nº WO 2006/047842.

Las modificaciones químicas incluyen también nucleótidos “espejo” que tienen una quiralidad invertida en comparación con los nucleótidos de origen natural, es decir, un nucleótido espejo puede ser un análogo “L-nucleotídico” de D-nucleótidos de origen natural (véase la patente de EE.UU. nº 6.602.858). Los nucleótidos espejo pueden incluir adicionalmente al menos una modificación en azúcar o base y/o una modificación en esqueleto, por ejemplo como se describe en la presente memoria, tal como un resto fosforotioato o fosfonato. La patente de EE.UU. nº 6.602.858 da a conocer catalizadores de ácido nucleico que incluyen al menos una sustitución L-nucleotídica. Los nucleótidos espejo incluyen, por ejemplo, L-ADN (3'-fosfato de L-desoxirriboadenosina (espejo de dA); 3'-fosfato de L-desoxirribocitidina (espejo de dC); 3'-fosfato de L-desoxirriboguanosina (espejo de dG); 3'-fosfato de L-desoxirribotimidina (imagen especular de dT)) y L-ARN (3'-fosfato de L-riboadenosina (espejo de rA); 3'-fosfato de L-ribocitidina (espejo de rC); 3'-fosfato de L-riboguanosina (espejo de rG); 3'-fosfato de L-ribouracilo (espejo de dU)).

En algunas realizaciones, los ribonucleótidos modificados incluyen desoxirribonucleótidos modificados, por ejemplo 5'OMe-ADN (3'-fosfato de 5-metildesoxirriboguanosina) que pueden ser útiles como nucleótidos en posición 5'-terminal (posición número 1); PACE (3'-fosfonoacetato de desoxirriboadenosina, 3'-fosfonoacetato de desoxirribocitidina, 3'-fosfonoacetato de desoxirriboguanosina y 3'-fosfonoacetato de desoxirribotimidina).

Pueden estar presentes modificaciones en una o más hebras de una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria, p.ej., en la hebra codificante, la hebra anticodificante o ambas hebras. En ciertas realizaciones, la hebra anticodificante puede incluir modificaciones y la hebra codificante puede incluir solo ARN no modificado.

Nucleobases

Las nucleobases del ácido nucleico dado a conocer en la presente memoria pueden incluir ribonucleótidos no modificados (purinas y pirimidinas) tales como adenina, guanina, citosina y uracilo. Las nucleobases en una o ambas hebras pueden modificarse con nucleobases naturales y sintéticas tales como timina, xantina, hipoxantina, inosina, 2-aminoadenina, derivados de 6-metilo y otros alquílicos de adenina y guanina, cualquier nucleótido “de base universal”; derivados de 2-propilo y otros alquílicos de adenina y guanina, 5-halogenouracilo y -citosina, 5-propiniluracilo y -citosina, 6-azouracilo, -citosina y -timina, 5-uracilo (seudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo-, -amino-, -tiol-, -tioalquil-, -hidroxil- y otras adeninas y guaninas 8-sustituídas, 5-trifluorometil- y otros uracilos y citosinas 5-sustituídos, 7-metilguanina, desazapurinas, análogos heterocíclicos sustituidos de purinas y pirimidinas, p.ej., derivados de aminoetiloxifenoxazina de purinas y pirimidinas (p.ej., derivados de 1-alquilo, 1-alquénilo, heteroaromáticos y 1-alquínilo) y tautómeros de los mismos, 8-oxo-N-6-metiladenina, 7-diazaxantina, 5-metilcitosina, 5-metiluracilo, 5-(1-propinil)uracilo, 5-(1-propinil)citosina y 4,4-etanocitosina). Otros ejemplos de bases adecuadas incluyen bases no purínicas y no pirimidínicas tales como 2-aminopiridina y triazinas.

Restos de azúcar

Los restos de azúcar en los ácidos nucleicos dados a conocer en la presente memoria pueden incluir un resto de azúcar 2'-hidroxipentofuranosilo sin ninguna modificación. Como alternativa, los restos de azúcar pueden estar modificados tales como resto de azúcar 2'-desoxipentofuranosilo, D-ribosa, hexosa, modificación en la posición 2' del resto de azúcar pentofuranosilo tal como 2'-O-alquilo (incluyendo 2'-O-metilo y 2'-O-etilo), concretamente 2'-alcoxilo, 2'-amino, 2'-O-alilo, 2'-S-alquilo, 2'-halógeno (incluyendo 2'-fluoro, -cloro y -bromo), 2'-metoxietoxilo, 2'-O-metoxietilo, 2'-O-2-metoxietilo, 2'-aliloxilo (-OCH₂CH=CH₂), 2'-propargilo, 2'-propilo, etinilo, etenilo, propenilo, CF, ciano, imidazol, carboxilato, tioato, alquilo inferior C₁ a C₁₀, alquilo, alcarilo o aralquilo inferiores sustituidos, OCF₃, OCN, O-, S- o N-alquilo; O-, S o N-alquénilo; SOCH₃; SO₂CH₃; ONO₂; NO₂, N₃; heterocicloalquilo; heterocicloalcarilo; aminoalquilamino; polialquilamino o sililo sustituido como, entre otros, por ejemplo como se describen en las patentes europeas EP 0.586.520 B1 o EP 0.618.925 B1.

Grupo alquilo incluye grupos alifáticos saturados, incluyendo grupos alquilo de cadena lineal (p.ej., metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, etc.), grupos alquilo de cadena ramificada (isopropilo, *terc*-butilo, isobutilo, etc.), grupos cicloalquilo (alícíclicos) (ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo), grupos cicloalquilo sustituidos con alquilo y grupos alquilo sustituidos con cicloalquilo. En ciertas realizaciones, un alquilo de cadena lineal o cadena ramificada tiene 6 o menos átomos de carbono en su esqueleto (p.ej., C₁-C₆ para cadena lineal, C₃-C₆ para cadena ramificada), y más preferiblemente 4 o menos. Igualmente, los cicloalquilos preferidos pueden tener 3-8 átomos de carbono en su estructura de anillo, y más preferiblemente tienen 5 o 6 carbonos en la estructura de anillo. El término C₁-C₆ incluye grupos alquilo que contienen de 1 a 6 átomos de carbono. El grupo alquilo puede ser un grupo alquilo sustituido tal como restos alquilo que tienen sustituyentes que reemplazan a un hidrógeno en uno o más carbonos del esqueleto hidrocarburo. Dichos sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, alquénilo, alquínilo, halógeno, hidroxilo, alquilcarboniloxilo, arilcarboniloxilo, alcoxicarboniloxilo,

ariloxicarboniloxilo, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcoxilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino, arilamino, diarilamino y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfinilo, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclilo, alquilarilo o un resto aromático o heteroaromático.

El grupo alcoxilo incluye grupos alquilo, alquenilo y alquinilo sustituidos ligados covalentemente a un átomo de oxígeno. Los ejemplos de grupos alcoxilo incluyen grupos metoxilo, etoxilo, isopropiloxilo, propoxilo, butoxilo y pentoxilo. Los ejemplos de grupos alcoxilo sustituidos incluyen grupos alcoxilo halogenados. Los grupos alcoxilo pueden sustituirse por grupos tales como restos alquenilo, alquinilo, halógeno, hidroxilo, alquilcarboniloxilo, arilcarboniloxilo, alcoxicarboniloxilo, ariloxicarboniloxilo, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcoxilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino, arilamino, diarilamino y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfinilo, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterociclilo, alquilarilo o aromáticos o heteroaromáticos. Los ejemplos de grupos alcoxilo sustituidos con halógeno incluyen, pero sin limitación, fluorometoxilo, difluorometoxilo, trifluorometoxilo, clorometoxilo, diclorometoxilo, triclorometoxilo, etc.

En algunas realizaciones, el anillo de pentafuranosilo puede reemplazarse por derivados acíclicos que carecen del enlace C2'-C3' del anillo de pentafuranosilo. Por ejemplo, los aciclonucleótidos pueden sustituir con un grupo 2'-hidroxietoximetilo el azúcar de 2'-desoxirribofuranosilo normalmente presente en los dNMP.

Los halógenos incluyen flúor, bromo, cloro y yodo.

Esqueleto

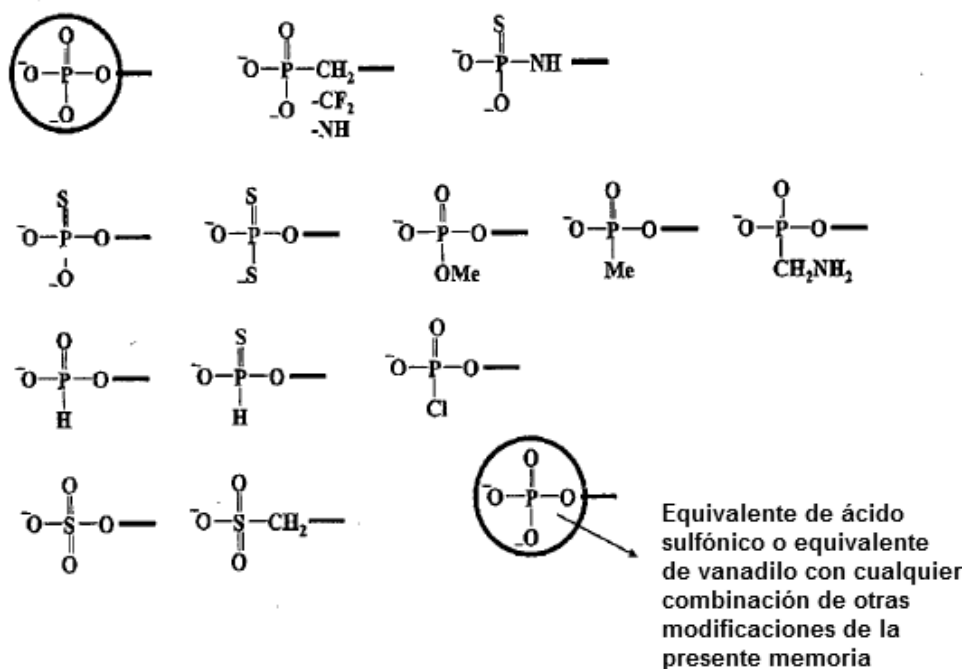
Las subunidades nucleosídicas del ácido nucleico dado a conocer en la presente memoria pueden ligarse entre sí por un enlace fosfodiéster. El enlace fosfodiéster puede estar opcionalmente sustituido por otros ligamientos. Por ejemplo, ligamientos de fosforotioato, entidades de tiofosfato-D-ribosa, triéster, tioato, esqueleto de puente 2'-5' (al que puede hacerse referencia también como nucleótido 5'-2' o 2'-5' o ribonucleótido 2'-5'), PACE, 3'-(o -5')desoxi-3'-(o -5')tiofosforotioato, fosforoditioato, fosforoseleniados, 3'-(o -5')desoxifosfinatos, boranofosfatos, 3'-(o -5')desoxi-3'-(o -5')aminofosforamidatos, hidrogenofosfonatos, fosfonatos, ésteres de boranofosfato, fosforamidatos, alquil- o arilfosfonatos y modificaciones de fosfotriéster tales como alquilsfosfotriésteres, ligamientos de fósforo de fosfotriéster, 5'-etoxifosfodiéster, P-alquilo xifosfotriéster, metilfosfonato y ligamientos que no contienen fósforo, por ejemplo, carbonato, carbamato, sililo, azufre, sulfonato, sulfonamida, formacetal, tioformacetal, oxima, metilenimino, metilenometilimino, metilenhidrazo, metilenodimetilhidrazo y metilenoximetilimino.

Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria pueden incluir un esqueleto de ácido peptidonucleico (APN). El esqueleto de APN incluye unidades de *N*-(2-aminoetil)glicina repetidas ligadas por enlaces peptídicos. Las diversas bases tales como purina, pirimidina, bases naturales y sintéticas están ligadas al esqueleto por enlaces de metilenocarbonilo.

Fosfatos terminales

Pueden hacerse modificaciones en los grupos fosfato terminales. Pueden usarse ejemplos no limitantes de diferentes químicas de estabilización, p.ej. para estabilizar el extremo 3' de las secuencias de ácido nucleico, incluyendo (1) desoxirribosa [3-3']-invertida; (2) desoxirribonucleótido; (3) [5'-3']-3'-desoxirribonucleótido; (4) [5'-3']-ribonucleótido; (5) [5'-3']-3'-O-metilribonucleótido; (6) 3'-glicerilo; (7) [3'-5']-3'-desoxirribonucleótido; (8) [3'-3']-desoxirribonucleótido; (9) [5'-2']-desoxirribonucleótido y (10) [5-3']-didesoxirribonucleótido. Además, las químicas de esqueleto no modificado pueden combinarse con una o más modificaciones de esqueleto diferentes descritas en la presente memoria.

Los grupos fosfato terminales modificados químicamente ejemplares incluyen aquellos mostrados a continuación:



Conjugados

Los nucleótidos y moléculas de ácido nucleico modificados (p.ej., moléculas de ANic) proporcionados en la presente memoria pueden incluir conjugados, por ejemplo, un conjugado conectado covalentemente con la molécula de ácido nucleico modificada químicamente. Los ejemplos no limitantes de conjugados incluyen conjugados y ligandos descritos en Vargeese *et al.*, documento de EE.UU. n° de serie 10/427.160. El conjugado puede estar conectado covalentemente con una molécula de ácido nucleico (tal como una molécula de ANic) a través de un ligador biodegradable. La molécula conjugada puede estar conectada con el extremo 3' y 5' de cualquiera de la hebra codificante, la hebra anticodificante o ambas hebras de la molécula de ácido nucleico modificada químicamente. La molécula de conjugado puede estar conectada con el extremo 5' de cualquiera de la hebra codificante, la hebra anticodificante o ambas hebras de la molécula de ácido nucleico modificada químicamente. La molécula de conjugación puede estar conectada a través de ambos extremos 3' y 5' de cualquiera de la hebra codificante, hebra anticodificante o ambas hebras de la molécula de ácido nucleico modificada químicamente o cualquier combinación de las mismas. En una realización, una molécula conjugada puede incluir una molécula que facilita el suministro de una molécula de ácido nucleico modificada químicamente a un sistema biológico tal como una célula. En otra realización, la molécula conjugada conectada con la molécula de ácido nucleico modificada químicamente es un polietilenglicol, seroalbúmina humana o un ligando de un receptor celular que puede mediar la captación celular. Los ejemplos de moléculas conjugadas específicas contemplados por la presente invención que pueden conectarse con moléculas de ácido nucleico modificadas químicamente se describen en Vargeese *et al.*, documento de EE.UU. n° de serie 10/201.394.

Ligadores

Una molécula de ácido nucleico proporcionada en la presente memoria (p.ej., un ANic) puede incluir un ligamiento nucleotídico, no nucleotídico o mixto nucleotídico/no nucleotídico que une la región codificante del ácido nucleico con la región anticodificante del ácido nucleico. Un ligador nucleotídico puede ser un ligador de ≥ 2 nucleótidos de longitud, por ejemplo de aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos de longitud. El ligador nucleotídico puede ser un aptámero de ácido nucleico. Se hace referencia como "aptámero" o "aptámero de ácido nucleico" como se usa en la presente memoria a una molécula de ácido nucleico que se une específicamente a una molécula diana, en la que la molécula de ácido nucleico tiene una secuencia que incluye una secuencia reconocida por la molécula diana en su entorno natural. Como alternativa, el aptámero puede ser una molécula de ácido nucleico que se une a una molécula diana (tal como ARNm de hsp47), en la que la molécula diana no se une naturalmente a un ácido nucleico. Por ejemplo, puede usarse un aptámero para unirse a un dominio de unión a ligando de una proteína, previniendo así la interacción del ligando de origen natural con la proteína. Este es un ejemplo no limitante y los especialistas en la materia reconocerán que pueden generarse fácilmente otras realizaciones usando técnicas generalmente conocidas en la materia. Véanse, p.ej., Gold *et al.*; 1995, *Annu. Rev. Biochem.*, 64, 763; Brody y Gold, 2000, *J. Biotechnol.*, 74, 5; Sun, 2000, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 2, 100; Kusser, 2000, *J. Biotechnol.*, 74, 27; Hermann y Patel, 2000, *Science*, 287, 820 y Jayasena, 1999, *Clinical Chemistry*, 45, 1628.

Un ligador no nucleotídico puede incluir un nucleótido abásico, poliéter, poliamina, poliamida, péptido, carbohidrato, lípido, polihidrocarburo u otros compuestos poliméricos (p.ej. polietilenglicoles tales como aquellos que tienen entre

2 y 100 unidades de etilenglicol). Los ejemplos específicos incluyen aquellos descritos por Seela y Kaiser, *Nucleic Acids Res.* 1990, 18: 6353 y *Nucleic Acids Res.* 1987, 15: 3113; Cload y Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113: 6324; Richardson y Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113: 5109; Ma *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 1993, 21: 2585 y *Biochemistry* 1993, 32:1751; Durand *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 1990, 18: 6353; McCurdy *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides* 1991, 10: 287; Jschke *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1993, 34: 301; Ono *et al.*, *Biochemistry* 1991, 30: 9914; Arnold *et al.*, publicación internacional nº WO 89/02439; Usman *et al.*, publicación internacional nº WO 95/06731; Dudycz *et al.*, publicación internacional nº WO 95/11910 y Ferentz y Verdine, *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113: 4000.

Extremos 5', extremos 3' y salientes

Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria (p.ej., moléculas de ANic) pueden ser de extremos romos por ambos lados, tener salientes en ambos lados o una combinación de extremos romos y salientes. Los salientes pueden aparecer en cualquier de los extremos 5' o 3' de la hebra codificante o anticodificante.

Los extremos 5' y/o 3' de moléculas de ácido nucleico bicatenarias (p.ej., ANic) pueden ser de extremos romos o tener un saliente. El extremo 5' puede ser de extremo romo y el extremo 3' tener un saliente en cualquiera de la hebra codificante o la hebra anticodificante. En otras realizaciones, el extremo 3' puede ser de extremo romo y el extremo 5' tiene un saliente en cualquiera de la hebra codificante o la hebra anticodificante. En aún otras realizaciones, ambos extremos 5' y 3' son de extremos romos o ambos extremos 5' y 3' tienen salientes.

El extremo 5' y/o 3' de una o ambas hebras del ácido nucleico puede incluir un grupo hidroxilo libre. El extremo 5' y/o 3' de cualquier hebra de molécula de ácido nucleico puede estar modificado para incluir una modificación química. Dicha modificación puede estabilizar las moléculas de ácido nucleico, p.ej., el extremo 3' puede tener una estabilidad aumentada debida a la presencia de la modificación de la molécula de ácido nucleico. Los ejemplos de modificaciones terminales (p.ej., caperuzas terminales) incluyen, pero sin limitación, abásico, desoxiabásico, (desoxi)abásico invertido, glicerilo, dinucleotídico, nucleótido acíclico, amino, fluoro, cloro, bromo, CN, CF, metoxilo, imidazol, carboxilato, tioato, alquilo inferior C₁ a C₁₀, alquilo inferior sustituido, alcarilo o aralquilo, OCF₃, OCN, O-, S- o N-alquilo; O-, S- o N-alquénilo; SOCH₃; SO₂CH₃; ONO₂; NO₂, N₃; heterocicloalquilo; heterocicloalcarilo; aminoalquilamino; polialquilamino o sililo sustituido como se describen, entre otros, en las patentes europeas EP 586.520 y EP 618.925 y otras modificaciones dadas a conocer en la presente memoria.

Las moléculas de ácido nucleico incluyen aquellas con extremos romos, concretamente extremos que no incluyen ningún nucleótido saliente. Una molécula de ácido nucleico puede incluir uno o más extremos romos. La molécula de ácido nucleico de extremos romos tiene una serie de pares de bases igual al número de nucleótidos presentes en cada hebra de la molécula de ácido nucleico. La molécula de ácido nucleico puede incluir un extremo romo, por ejemplo cuando el extremo 5' de la hebra anticodificante y el extremo 3' de la hebra codificante no tienen nucleótidos salientes. La molécula de ácido nucleico puede incluir un extremo romo, por ejemplo cuando el extremo 3' de la hebra anticodificante y el extremo 5' de la hebra codificante no tienen nucleótidos salientes. Una molécula de ácido nucleico puede incluir dos extremos romos, por ejemplo cuando el extremo 3' de la hebra anticodificante y el extremo 5' de la hebra codificante, así como el extremo 5' de la hebra anticodificante y el extremo 3' de la hebra codificante, no tienen nucleótidos salientes. Otros nucleótidos presentes en una molécula de ácido nucleico de extremos romos pueden incluir, por ejemplo, desapareamientos, protuberancias, bucles o pares de bases oscilantes para modular la actividad de la molécula de ácido nucleico para mediar la interferencia de ARN.

En ciertas realizaciones de las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) proporcionadas en la presente memoria, al menos una de las moléculas tiene un saliente de al menos un nucleótido (por ejemplo, 1 a 8 nucleótidos salientes). Por ejemplo, una o ambas hebras de una molécula de ácido nucleico bicatenaria dada a conocer en la presente memoria pueden tener un saliente en el extremo 5' o en el extremo 3' o en ambos. Puede estar presente un saliente en cualquiera o ambas de la hebra codificante y hebra anticodificante de la molécula de ácido nucleico. La longitud del saliente puede ser tan pequeña como de 1 nucleótido y tan larga como de 1 a 8 o más nucleótidos (p.ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleótidos; en algunas realizaciones preferidas, el saliente es de 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleótidos; por ejemplo un saliente puede ser de 2 nucleótidos. El nucleótido o nucleótidos que forman el saliente pueden incluir un desoxirribonucleótido o desoxirribonucleótidos, un ribonucleótido o ribonucleótidos, nucleobases naturales y no naturales o cualquier nucleótido modificado en el azúcar, base o grupo fosfato tal como se da a conocer en la presente memoria. Una molécula de ácido nucleico bicatenaria puede tener ambos salientes 5' y 3'. Los salientes en el extremo 5' y 3' pueden ser de diferentes longitudes. Un saliente puede incluir al menos una modificación de ácido nucleico que puede ser un desoxirribonucleótido. Pueden estar en el extremo 5' uno o más desoxirribonucleótidos. El extremo 3' de la contrahebra respectiva de la molécula de ácido nucleico puede no tener un saliente, más preferiblemente no un saliente desoxirribonucleotídico. El uno o más desoxirribonucleótidos pueden ser 3'-terminales. El extremo 5' de la contrahebra respectiva del ARNbc puede no tener un saliente, más preferiblemente no un saliente desoxirribonucleotídico. El saliente en cualquiera de los extremos 5' o 3' de una hebra puede ser de 1 a 8 (p.ej., de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) nucleótidos no apareados, preferiblemente el saliente es de 2-3 nucleótidos no apareados, más preferiblemente de 2 nucleótidos no apareados. Las moléculas de ácido nucleico pueden incluir moléculas de ácido nucleico de dúplex con extremos salientes de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 (p.ej., de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20);

preferiblemente de 1-8 (p.ej., de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) nucleótidos, por ejemplo, dúplex de aproximadamente 21 nucleótidos con aproximadamente 19 pares de bases y salientes mononucleotídicos, dinucleotídicos o trinucleotídicos 3'-terminales. Las moléculas de ácido nucleico de la presente memoria pueden incluir moléculas de ácido nucleico de dúplex con extremos romos en que ambos extremos son romos, o como alternativa, en que uno de los extremos es romo. Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria pueden incluir uno o más extremos romos, concretamente cuando un extremo romo no tiene ningún nucleótido saliente. En una realización, la molécula de ácido nucleico de extremos romos tiene una serie de pares de bases igual al número de nucleótidos presentes en cada hebra de la molécula de ácido nucleico. La molécula de ácido nucleico puede incluir un extremo romo, por ejemplo cuando el extremo 5' de la hebra anticodificante y el extremo 3' de la hebra codificante no tienen ningún nucleótido saliente. La molécula de ácido nucleico puede incluir un extremo romo, por ejemplo cuando el extremo 3' de la hebra anticodificante y el extremo 5' de la hebra codificante no tienen ningún nucleótido saliente. Una molécula de ácido nucleico puede incluir dos extremos romos, por ejemplo cuando el extremo 3' de la hebra anticodificante y el extremo 5' de la hebra codificante, así como el extremo 5' de la hebra anticodificante y el extremo 3' de la hebra codificante, no tienen ningún nucleótido saliente. En ciertas realizaciones preferidas, los compuestos de ácido nucleico son de extremos romos. Otros nucleótidos presentes en una molécula de ANic de extremos romos pueden incluir, por ejemplo, desapareamientos, protuberancias, bucles o pares de bases oscilantes para modular la actividad de la molécula de ácido nucleico para medir la interferencia de ARN.

En muchas realizaciones, uno o más de, o todos, los nucleótidos salientes de una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se describe en la presente memoria están modificados tal como se describe en la presente memoria; por ejemplo, uno o más, o todos, los nucleótidos pueden ser 2'-desoxinucleótidos.

Cantidad, localización y patrones de las modificaciones

Las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) dadas a conocer en la presente memoria pueden incluir nucleótidos modificados como un porcentaje del número total de nucleótidos presentes en la molécula de ácido nucleico. Como tal, la molécula de ácido nucleico puede incluir de aproximadamente 5 % a aproximadamente 100 % de nucleótidos modificados (p.ej., aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de nucleótidos modificados). El porcentaje real de nucleótidos modificados presentes en una molécula de ácido nucleico dada dependerá del número total de nucleótidos presentes en el ácido nucleico. Si la molécula de ácido nucleico es monocatenaria, la modificación porcentual puede estar basada en el número total de nucleótidos presentes en la molécula de ácido nucleico monocatenaria. Igualmente, si la molécula de ácido nucleico es bicatenaria, la modificación porcentual puede estar basada en el número total de nucleótidos presentes en la hebra codificante, hebra anticodificante o ambas hebras codificante y anticodificante.

Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria pueden incluir ARN no modificado como un porcentaje del número total de nucleótidos en la molécula de ácido nucleico. Como tal, una molécula de ácido nucleico puede incluir de aproximadamente 5 % a aproximadamente 100 % de nucleótidos modificados (p.ej., aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de los nucleótidos totales presentes en una molécula de ácido nucleico).

Una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) puede incluir una hebra codificante que incluye de aproximadamente 1 a aproximadamente 5, específicamente aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 ligamientos internucleotídicos de fosforotioato y/o uno o más (p.ej., aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5 o más) 2'-desoxi-, 2'-O-metil-, 2'-desoxifluoro- y/o uno o más (p.ej., aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5 o más) nucleótidos modificados de base universal, y opcionalmente una molécula de caperuza terminal en el extremo 3', el extremo 5' o ambos extremos 3' y 5' de la hebra codificante, y en la que la hebra anticodificante incluye de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 o más, específicamente aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5 o más ligamientos internucleotídicos de fosforotioato y/o uno o más (p.ej., aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) 2'-desoxi-, 2'-O-metil-, 2'-desoxi-2'-fluoro- y/o uno o más (p.ej., aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) nucleótidos modificados de base universal, y opcionalmente una molécula de caperuza terminal en el extremo 3', el extremo 5' o ambos extremos 3' y 5' de la hebra anticodificante. Una molécula de ácido nucleico puede incluir aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más nucleótidos de pirimidina de la hebra codificante y/o anticodificante del ácido nucleico que están modificados químicamente con 2'-desoxi-, 2'-O-metil- y/o 2'-desoxi-2'-fluoronucleótidos, con o sin aproximadamente 1 a aproximadamente 5 o más, por ejemplo aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5 o más ligamientos internucleotídicos de fosforotioato y/o una molécula de caperuza terminal en el extremo 3', el extremo 5' o ambos extremos 3' y 5', que están presentes en la misma o diferente hebra.

Una molécula de ácido nucleico puede incluir de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 o más (específicamente aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5 o más) ligamientos internucleotídicos de fosforotioato en cada hebra de la molécula de ácido nucleico.

Una molécula de ácido nucleico puede incluir ligamientos internucleotídicos 2'-5', por ejemplo en el extremo 3', el extremo 5' o ambos extremos 3' y 5' de una o ambas de las hebras de secuencia de ácido nucleico. Además, el

ligamiento o ligamientos internucleotídicos 2'-5' pueden estar presentes en diversas otras posiciones en una o ambas de las hebras de la secuencia del ácido nucleico, por ejemplo aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más, incluyendo que cada ligamiento internucleotídico de un nucleótido pirimidínico en una o ambas hebras de la molécula de ANic puede incluir un ligamiento internucleotídico 2'-5', o aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más, incluyendo que cada ligamiento internucleotídico de un nucleótido purínico en una o ambas hebras de la molécula de ARNic puede incluir un ligamiento internucleotídico 2'-5'.

Una molécula de ácido nucleico interferente corto (ANic) modificada químicamente puede incluir una región anticodificante, en la que cualquiera de (p.ej., uno o más o todos) los nucleótidos pirimidínicos presentes en la región anticodificante son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina (p.ej., en la que todos los nucleótidos pirimidínicos son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina o como alternativa una pluralidad de los nucleótidos de pirimidina son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina), y en la que cualquiera de (p.ej., uno o más o todos) los nucleótidos purínicos presentes en la región anticodificante son nucleótidos de 2'-desoxipurina (p.ej., en la que todos los nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-desoxipurina o como alternativa una pluralidad de nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-desoxipurina).

Una molécula de ácido nucleico interferente corto (ANic) modificada químicamente puede incluir una región anticodificante, en la que cualquiera de (p.ej., uno o más o todos) los nucleótidos pirimidínicos presentes en la región anticodificante son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina (p.ej., en la que todos los nucleótidos pirimidínicos son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina o como alternativa una pluralidad de nucleótidos pirimidínicos son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina), y en la que cualquiera de (p.ej., uno o más o todos) los nucleótidos purínicos presentes en la región anticodificante son nucleótidos de 2'-O-metilpurina (p.ej., en la que todos los nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina o como alternativa una pluralidad de nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina).

Una molécula de ácido nucleico interferente corto (ANic) modificada químicamente capaz de medir la interferencia de ARN (iARN) contra hsp47 dentro de una célula o sistema *in vitro* reconstituido puede incluir una región codificante, en la que uno o más nucleótidos pirimidínicos presentes en la región codificante son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina (p.ej., en la que todos los nucleótidos pirimidínicos son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina o como alternativa una pluralidad de nucleótidos pirimidínicos son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina), y uno o más nucleótidos purínicos presentes en la región codificante son nucleótidos de 2'-desoxipurina (p.ej., en la que todos los nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-desoxipurina o como alternativa una pluralidad de nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-desoxipurina), y una región anticodificante en la que uno o más nucleótidos pirimidínicos presentes en la región anticodificante son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina (p.ej., en la que todos los nucleótidos pirimidínicos son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina o como alternativa una pluralidad de nucleótidos pirimidínicos son nucleótidos de 2'-desoxi-2'-fluoropirimidina), y uno o más nucleótidos purínicos presentes en la región anticodificante son nucleótidos de 2'-O-metilpurina (p.ej., en la que todos los nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina o como alternativa una pluralidad de nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina). La región codificante y/o la región anticodificante pueden tener una modificación de caperuza terminal, tal como cualquier modificación, que está opcionalmente presente en el extremo 3', el extremo 5' o ambos extremos 3' y 5' de la secuencia codificante y/o anticodificante. La región codificante y/o anticodificante puede incluir opcionalmente además un saliente nucleotídico 3'-terminal que tiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 (p.ej., aproximadamente 1, 2, 3 o 4) 2'-desoxinucleótidos. Los nucleótidos salientes pueden incluir adicionalmente uno o más de (p.ej., aproximadamente 1, 2, 3, 4 o más) ligamientos internucleotídicos fosforotioato, fosfonoacetato y/o tiofosfonoacetato. Los nucleótidos purínicos en la región codificante pueden ser como alternativa nucleótidos de 2'-O-metilpurina (p.ej., en la que todos los nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina o como alternativa una pluralidad de los nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina) y uno o más nucleótidos purínicos presentes en la región anticodificante son nucleótidos de 2'-O-metilpurina (p.ej., en la que todos los nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina o como alternativa una pluralidad de nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina). Uno o más nucleótidos purínicos en la región codificante pueden ser como alternativa ribonucleótidos purínicos (p.ej., en los que todos los nucleótidos purínicos son ribonucleótidos purínicos o como alternativa una pluralidad de nucleótidos purínicos son ribonucleótidos purínicos) y cualquier nucleótido purínico presente en la región anticodificante es un nucleótido de 2'-O-metilpurina (p.ej., en los que todos los nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina o como alternativa una pluralidad de nucleótidos purínicos son nucleótidos de 2'-O-metilpurina). Uno o más nucleótidos purínicos en la región codificante y/o presentes en la región anticodificante pueden seleccionarse como alternativa del grupo consistente en 2'-desoxinucleótidos, nucleótidos de ácido nucleico bloqueado (ANB), 2'-metoxietilnucleótidos, 4'-tionucleótidos y 2'-O-metilnucleótidos (en los que todos los nucleótidos purínicos se seleccionan del grupo consistente en 2'-desoxinucleótidos, nucleótidos de ácido nucleico bloqueado (ANB), 2'-metoxietilnucleótidos, 4'-tionucleótidos y 2'-O-metilnucleótidos, o como alternativa una pluralidad de nucleótidos purínicos se seleccionan del grupo consistente en 2'-desoxinucleótidos, nucleótidos de ácido nucleico bloqueado (ANB), 2'-metoxietilnucleótidos, 4'-tionucleótidos y 2'-O-metilnucleótidos).

En algunas realizaciones, una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se describe en la presente memoria incluye un nucleótido modificado (por ejemplo, un nucleótido modificado) en la hebra anticodificante, por ejemplo en posición 6 o posición 7 de la hebra anticodificante.

Patrones de modificación y modificaciones alternativas

Las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) proporcionadas en la presente memoria pueden tener patrones de ácidos nucleicos modificados y no modificados. Un patrón de modificación de los nucleótidos de un tramo contiguo de nucleótidos puede ser una modificación contenida en un solo nucleótido o grupo de nucleótidos que están ligados covalentemente entre sí a través de enlaces fosfodiéster estándares o, al menos parcialmente, a través de enlaces fosforotioato. Por consiguiente, un "patrón", como se contempla en la presente memoria, no tiene que implicar necesariamente unidades repetidas, aunque puede. Los ejemplos de patrones de modificación que pueden usarse junto con las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) proporcionadas en la presente memoria incluyen aquellos dados a conocer en Giese, patente de EE.UU. n° 7.452.987. Por ejemplo, las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) proporcionadas en la presente memoria incluyen aquellas que tienen patrones de modificación tales como, similares a o iguales que los patrones mostrados en el diagrama de la FIG. 2 de la patente de EE.UU. n° 7.452.987 de Giese.

Un nucleótido modificado o grupo de nucleótidos modificados puede estar en el extremo 5' o el extremo 3' de la hebra codificante o no codificante y un nucleótido o grupo de nucleótidos flanqueante está dispuesto en ambos lados del nucleótido o grupo modificado, estando el nucleótido o grupo flanqueante no modificado o no teniendo la misma modificación que el nucleótido o grupo de nucleótidos precedente. Sin embargo, el nucleótido o grupo de nucleótidos modificado puede tener una modificación diferente. Esta secuencia de nucleótido modificado o grupo de nucleótidos modificados, respectivamente, y nucleótido no modificado o modificado diferentemente o grupo de nucleótidos no modificados o modificados diferentemente puede repetirse una o más veces.

En algunos patrones, el nucleótido 5'-terminal de una hebra es un nucleótido modificado, mientras que en otros patrones el nucleótido 5'-terminal de una hebra es un nucleótido no modificado. En algunos patrones, el extremo 5' de una hebra empieza con un grupo de nucleótidos modificados, mientras que en otros patrones el extremo 5'-terminal es un grupo no modificado de nucleótidos. Este patrón puede estar en el primer tramo o el segundo tramo de la molécula de ácido nucleico o ambos.

Los nucleótidos modificados de una hebra de la molécula de ácido nucleico pueden ser complementarios en la posición de los nucleótidos o grupos de nucleótidos no modificados de la otra hebra,

Puede haber un desplazamiento de fase entre modificaciones o patrones de modificaciones en una hebra respecto al patrón de modificaciones de la otra hebra, de tal modo que los grupos de modificaciones no se solapen. En un caso, el desplazamiento es tal que el grupo modificado de nucleótidos de la hebra codificante corresponde al grupo no modificado de nucleótidos de la hebra anticodificante y viceversa.

Puede haber un desplazamiento parcial del patrón de modificación, de tal modo que los grupos modificados se solapen. Los grupos de nucleótidos modificados en cualquier hebra dada pueden ser opcionalmente de la misma longitud, pero pueden ser de longitudes diferentes. De forma similar, los grupos de nucleótidos no modificados en cualquier hebra dada pueden ser opcionalmente de la misma longitud o de longitudes diferentes.

En algunos patrones, el segundo (penúltimo) nucleótido en el extremo de la hebra es un nucleótido no modificado o el comienzo de un grupo de nucleótidos no modificados. Preferiblemente, este nucleótido no modificado o grupo no modificado de nucleótidos está localizado en el extremo 5' de cualquiera o ambas de las hebras codificante y anticodificante, y aún más preferiblemente en el extremo de la hebra codificante. Un nucleótido no modificado o un grupo no modificado de nucleótidos pueden estar localizados en el extremo 5' de la hebra codificante. En una realización preferida, el patrón consiste en alternar nucleótidos modificados y no modificados individuales.

En algunas moléculas de ácido nucleico bicatenarias que incluyen un nucleótido modificado con 2'-O-metilo y un nucleótido no modificado, preferiblemente un nucleótido que no está modificado con 2'-O-metilo, se incorporan a ambas hebras de forma alternada, dando como resultado un patrón alternado de nucleótidos modificados con 2'-O-metilo y nucleótidos que no están modificados o al menos no incluyen una modificación con 2'-O-metilo. En ciertas realizaciones, existe la misma secuencia de modificación con 2'-O-metilo y no modificación en la segunda hebra; en otras realizaciones, los nucleótidos modificados con 2'-O-metilo alternados están solo presentes en la hebra codificante y no están presentes en la hebra anticodificante; y en aún otras realizaciones, los nucleótidos modificados con 2'-O-metilo alternados están solo presentes en la hebra codificante y no están presentes en la hebra anticodificante. En ciertas realizaciones, hay un desplazamiento de fase entre las dos hebras, de tal modo que el nucleótido modificado con 2'-O-metilo en la primera hebra se aparee por bases con un nucleótido o nucleótidos no modificados en la segunda hebra y viceversa. Esta disposición particular, concretamente apareamiento de bases de nucleótidos modificados con 2'-O-metilo y no modificados en ambas hebras, es particularmente preferida en ciertas realizaciones. En ciertas realizaciones, el patrón de nucleótidos modificados con 2'-O-metilo alternados existe a lo largo de toda la molécula de ácido nucleico, o toda la región de dúplex. En otras realizaciones, el patrón de nucleótidos modificados con 2'-O-metilo alternados existe solo en una porción del ácido nucleico o toda la región de dúplex.

En patrones “con desplazamiento de fase”, puede preferirse si la hebra anticodificante empieza con un nucleótido modificado con 2'-O-metilo en el extremo 5', con lo que por consiguiente el segundo nucleótido no está modificado y el tercero, quinto, séptimo y demás nucleótidos están de nuevo por tanto modificados con 2'-O-metilo, mientras que el segundo, cuarto, sexto, octavo y similares nucleótidos son nucleótidos no modificados.

Localizaciones y patrones de modificación ejemplares

Aunque se proporcionan patrones ejemplares con más detalle a continuación, se contemplan todas las permutaciones de patrones con todas las características posibles de las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria y aquellas conocidas en la materia (p.ej., las características incluyen, pero sin limitación, longitud de la hebra codificante, longitud de la hebra anticodificante, longitud de la región de dúplex, longitud del saliente, si uno o ambos extremos de una molécula de ácido nucleico bicatenaria es romo o tiene un saliente, localización del ácido nucleico modificado, número de ácidos nucleicos modificados, tipos de modificaciones, si una molécula de ácido nucleico con doble saliente tiene el mismo o diferente número de nucleótidos en el saliente de cada lado, si se usa una o más de un tipo de modificación en una molécula de ácido nucleico y el número de nucleótidos modificados/no modificados contiguos). Con respecto a todos los ejemplos detallados proporcionados a continuación, aunque se muestra que la región de dúplex es de 19 nucleótidos, la moléculas de ácido nucleico proporcionadas en la presente memoria pueden tener una región de dúplex en el intervalo de 1 a 49 nucleótidos de longitud, ya que cada hebra de una región de dúplex puede ser independientemente de 17-49 nucleótidos de longitud. Se proporcionan en la presente memoria patrones ejemplares.

Las moléculas de ácido nucleico pueden tener un extremo romo (cuando n es 0) en ambos extremos que incluye un conjunto contiguo de ácidos nucleicos modificados. El ácido nucleico modificado puede estar localizado en cualquier posición a lo largo de la hebra codificante o anticodificante. Las moléculas de ácido nucleico pueden incluir un grupo de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 o 49 nucleótidos modificados contiguos. Los ácidos nucleicos modificados pueden constituir hasta un 1 %, 2 %, 3 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 100 % de una hebra de ácido nucleico. Los ácidos nucleicos modificados de los ejemplos inmediatamente a continuación pueden estar solo en la hebra codificante, solo en la hebra anticodificante o en ambas hebras codificante y anticodificante.

Se muestran a continuación patrones de ácido nucleico en que X= nucleótido de hebra codificante en la región de dúplex; X_a= nucleótido de saliente 5' en la hebra codificante; X_b= nucleótido de saliente 3' en la hebra codificante; Y= nucleótido de hebra anticodificante en la región de dúplex; Y_a= nucleótido de saliente 3' en la hebra anticodificante; Y_b= nucleótido de saliente 5' en la hebra anticodificante y M= nucleótido modificado en la región de dúplex. Cada a y b son independientemente de 0 a 8 (p.ej., 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8). Cada X, Y, a y b están independientemente modificados o no modificados. Las hebras codificante y anticodificante pueden ser cada una independientemente de 17-49 nucleótidos de longitud. Los ejemplos proporcionados a continuación tienen una región de dúplex de 19 nucleótidos, sin embargo, las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria pueden tener una región de dúplex de cualquier tamaño entre 17 y 49 nucleótidos y en que cada hebra es independientemente de entre 17 y 49 nucleótidos de longitud.

```

5'      XaXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXb
3'      YbYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYa

```

Se muestran a continuación patrones de molécula de ácido nucleico ejemplares adicionales en que X= nucleótidos de hebra codificante no modificados; x= un nucleótido de saliente no modificado en la hebra codificante; Y= nucleótidos de hebra anticodificante no modificados; y= un nucleótido de saliente no modificado en la hebra anticodificante y M= un nucleótido modificado. Las hebras codificante y anticodificante pueden ser cada una independientemente de 17-49 nucleótidos de longitud. Los ejemplos proporcionados a continuación tienen una región de dúplex de 19 nucleótidos, sin embargo, las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria pueden tener una región de dúplex de cualquier tamaño entre 17 y 49 nucleótidos y en que cada hebra es independientemente de entre 17 y 49 nucleótidos de longitud.

```

5'      MnXXXXXXXXXXMXXXXXXXXXMn
3'      MnYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYn

```

```

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYMYYYYYYYY

```

5'	XXXXXXXXXX MM XXXXXXXXXX
3'	YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY
5'	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'	YYYYYYYY MM YYYYYYYY
5'	XXXXXXXXXX M XXXXXXXXXX
3'	YYYYYYYY MY YYYYYYYY
5'	XXXXX M XXXXXXXXXXXXXX
3'	YYYYYYYY MY YYYYYYYY
5'	M XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'	YYYYYYYY MY YYYY
5'	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX M
3'	YYYY MY YYYYYYYYYYYY
5'	XXXXXXXXXX M XXXXXXXXXX
3'	MY YYYYYYYYYYYYYYYY
5'	XXXXXXXX M XXXXXXXXXX
3'	YYYYYYYYYYYYYYYY M
5'	XXXXXXXXXXXXXXXX M XXXX
3'	M YYYYYYYYYYYYYYYY
5'	MMMMMMMMMMMMMMMMMM
3'	MMMMMMMMMMMMMMMMMM

5 Las moléculas de ácido nucleico pueden tener extremos romos en ambos extremos con ácidos nucleicos modificados alternados. Los ácidos nucleicos modificados pueden estar localizados en cualquier posición a lo largo de la hebra codificante o anticodificante.

5'	MXMXMXMXMXMXMXMXM
3'	YMYMYMYMYMYMYMYMY
5'	XMXXMXMXMXMXMXMXM
3'	MYMYMYMYMYMYMYMYM

5' **MMXMMXMMXMMXMMXMMX**
3' **YMMYMMYMMYMMYMMYMMY**

5' **XMMXMMXMMXMMXMMXMMX**
3' **MMYMMYMMYMMYMMYMMY**

5' **MMMXXMMXMMXMMXMMX**
3' **YMMYMMYMMYMMYMMY**

5' **XMMMXXMMXMMXMMXMM**
3' **MMYMMYMMYMMYMMYMM**

Moléculas de ácido nucleico con un extremo 5' romo y un saliente del extremo 3' con un solo ácido nucleico modificado.

5 Moléculas de ácido nucleico con un saliente del extremo 5' y un extremo 3' romo con un solo ácido nucleico modificado.

10 Moléculas de ácido nucleico con salientes en ambos extremos y todos los salientes son ácidos nucleicos modificados. En el patrón inmediatamente posterior, M es el número n de ácidos nucleicos modificados, en que n es un entero de 0 a 8 (concretamente 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8).

5' **XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXM**
3' **MYYYYYYYYYYYYYYYYYYY**

Moléculas de ácido nucleico con salientes en ambos extremos y algunos nucleótidos de saliente son nucleótidos modificados. En los patrones inmediatamente posteriores, M es el número n de nucleótidos modificados, x es el número n de nucleótidos de saliente no modificados en la hebra codificante e y es el número n de nucleótidos de saliente no modificados en la hebra anticodificante, en que cada n es independientemente un entero de 0 a 8 (concretamente 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8), y en que cada saliente es como máximo de 20 nucleótidos, preferiblemente un máximo de 8 nucleótidos (modificados y/o no modificados).

15

5' **XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXM**
3' **yYYYYYYYYYYYYYYYYYYY**

5' **XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMx**
3' **yYYYYYYYYYYYYYYYYYYY**

5' **XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMxM**
3' **yYYYYYYYYYYYYYYYYYYY**

5' **XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMxMx**
3' **yYYYYYYYYYYYYYYYYYYY**

5' **XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMxMxM**
3' **yYYYYYYYYYYYYYYYYYYY**

5' **XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMxMxMx**
3' **yYYYYYYYYYYYYYYYYYYY**

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX**MxMxMxM**
3' yYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX**MxMxMxMx**
3' yYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5' **M**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' x**M**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' **MxM**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' x**MxM**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' **MxMxM**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' x**MxMxM**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' **MxMxMxM**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' x**MxMxMxM**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' **MxMxMxM**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' x**MxMxMxM**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYYy

5' xXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYY**M**

5' xXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYY**My**

5' xXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYY**MyM**

5' xXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYY**MyMy**

5' xXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3' YYYYYYYYYYYYYYYYYY**MyMyM**

```

5'      xXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYYMyMyMy

5'      xXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYYMyMyMyM

5'      xXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYYMyMyMyMy

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXx
3'      MYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXx
3'      yMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXx
3'      MyMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXx
3'      yMyMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXx
3'      MyMyMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXx
3'      yMyMyMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXx
3'      MyMyMyMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXx
3'      yMyMyMyMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

```

Nucleótidos modificados en el extremo 3' de la región codificante.

```

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXM
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMMM
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMMMM

```

```

3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY
.
5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMMMMM
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMMMMM
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMMMMMMMM
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMMMMMMMM
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

```

Saliente en el extremo 5' de la región codificante.

```

5'      MXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      MMXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      MMMXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      MMMMXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      MMMMMXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      MMMMMMXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      MMMMMMMXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

```

Saliente en el extremo 3' de la región anticodificante.

```

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      MYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      MMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      MMMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      MMMMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      MMMMMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      MMMMMMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      MMMMMMMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

```

Nucleótido o nucleótidos modificados en la región codificante.

```

5'      XXXXXXXXXXXMXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      YYYYYYYYYYMYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM
3'      YYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3'      MMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY

```

- 5 Se proporcionan a continuación moléculas de ácido nucleico ejemplares junto con la estructura general equivalente en línea con los símbolos usados anteriormente:

10 ARNic de siHSP47-C contra hsp47 humana y de rata que tiene una región de dúplex de 19 nucleótidos (concretamente de 19 unidades) y salientes de 2 nucleótidos modificados (concretamente desoxinucleótidos) en los extremos 3' de las hebras codificante y anticodificante.

5' GGACAGGCCUCUACAACUAdTdT 3'
 3' dTdTCCUGUCCGGAGAUGUUGAU 5'
 5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM
 3' MMYYYYYYYYYYYYYYYYYY

ARNic de siHSP47-Cd contra hsp47 humana y de rata que tiene una región de dúplex de 25 unidades, un saliente de 2 nucleótidos en el extremo 3' de la hebra anticodificante y 2 nucleótidos modificados en las posiciones 5'-terminal y penúltima de la hebra codificante.

5' GGACAGGCCUCUACAACUACUACdGdA 3'
 3' UUCUGUCCGGAGAUGUUGAUGAUGCU 5'
 5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM 3'
 3' yyYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

ARNic de siHSP47-1 contra ADNc 719-737 de hsp47 humana y de rata que tiene una región de dúplex de 19 unidades y salientes de 2 nucleótidos modificados (concretamente desoxinucleótidos) en los extremos 3' de las hebras codificante y anticodificante.

5' CAGGCCUCUACAACUACUAdTdT 3'
 3' dTdTGUCCGGAGAUGUUGAUGAU 5'

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM 3'
 3' MMYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

ARNic de siHSP47-1d contra ADNc 719-743 de hsp47 humana que tiene 25 unidades con un extremo romo en el extremo 3' de la hebra codificante y un saliente de 2 nucleótidos en el extremo 3' de la hebra anticodificante y 2 nucleótidos modificados en las posiciones 5'-terminal y penúltima de la hebra codificante.

5' CAGGCCUCUACAACUACUACGACdGdA 3'
 3' UUGUCCGGAGAUGUUGAUGAUGCUGCU 5'

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM 3'
 3' yyYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

ARNic de siHSP47-2 contra ADNc 469-487 de hsp47 humana que tiene una región de dúplex de 19 unidades y salientes de 2 nucleótidos modificados (concretamente desoxinucleótidos) en los extremos 3' de las hebras codificante y anticodificante.

5' GAGCACUCCAAGAUCAACUdTdT 3'
 3' dTdTTCUCGUGAGGUUCUAGUUGA 5'

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM 3'
 3' MMYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

ARNic de siHSP47-2d contra ADNc 469-493 de hsp47 humana que tiene una región de dúplex de 25 unidades con un extremo romo en el extremo 3' de la hebra codificante y un saliente de 2 nucleótidos en el extremo 3' de la hebra anticodificante, y 2 nucleótidos modificados en las posiciones 5'-terminal y penúltima de la hebra codificante.

5' GAGCACUCCAAGAUCAACUCCGdCdG 3'
 3' UUCUCGUGAGGUUCUAGUUGAAGGCGC 5'

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM 3'
 3' yyYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

ARNic de siHSP47-2d de rata contra ADNc 466-490 de Gp46 de rata que tiene una región de dúplex de 25 unidades con un extremo romo en el extremo 3' de la hebra codificante y un saliente de 2 nucleótidos en el extremo 3' de la hebra anticodificante, y 2 nucleótidos modificados en las posiciones 5'-terminal y penúltima de la hebra codificante.

5' GAACACUCCAAGAUCAACUCCG**dAdG** 3'
3' UUCUUGUGAGGUUCUAGUUGAAGGCUC 5'

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX**MM** 3'
3' yyYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

ARNic de siHSP47-3 contra ADNc 980-998 de hsp47 humana que tiene una región de dúplex de 19 unidades y salientes de 2 nucleótidos modificados (concretamente desoxinucleótidos) en los extremos 3' de las hebras codificante y anticodificante.

5' CTGAGGCCATTGACAAGA**dTdT** 3'
3' **dTdT**TGACUCCGGUACUGUUCUU 5'

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX**MM** 3'
3' **MM**YYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

5 ARNic de siHSP47-3d contra ADNc 980-1004 de hsp47 humana que tiene una región de dúplex de 25 unidades con un extremo romo en el extremo 3' de la hebra codificante y un saliente de 2 nucleótidos en el extremo 3' de la hebra anticodificante, y 2 nucleótidos modificados en las posiciones 5'-terminal y penúltima de las hebra codificante.

5' CTGAGGCCATTGACAAGAACAAG**dGdC** 3'
3' UUGACUCCGGUACUGUUCUUGUCCG 5'

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX**MM** 3'
3' yyYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

10 ARNic de HSP47-4ic contra ADNc 735-753 de hsp47 humana que tiene una región de dúplex de 19 unidades y salientes de 2 nucleótidos modificados (concretamente desoxinucleótidos) en los extremos 3' de las hebras codificante y anticodificante.

5' CUACGACGACGAGAAGGA**dTdT** 3'
3' **dTdT**GAUGCUGCUGCUCUCCUU 5'

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX**MM** 3'
3' **MM**YYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

15 ARNic de siHSP47-4-d contra ADNc 735-759 de hsp47 humana que tiene una región de dúplex de 25 unidades con un extremo romo en el extremo 3' de la hebra codificante y un saliente de 2 nucleótidos en el extremo 3' de la hebra anticodificante, y 2 nucleótidos modificados en las posiciones 5'-terminal y penúltima de la hebra codificante.

5' CUACGACGACGAGAAGGAAAAGC**dTdT** 3'
3' UUGAUGCUGCUGCUCUCCUUUUCGAC 5'

5' XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX**MM** 3'
3' yyYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY 5'

20 ARNic de siHSP47-5 contra ADNc 621-639 de hsp47 humana que tiene una región de dúplex de 19 unidades y salientes de 2 nucleótidos modificados (concretamente desoxinucleótidos) en los extremos 3' de las hebras codificante y anticodificante.

```

5'      GCCACACUGGGAUGAGAAAdTdT  3'
3'  dTdTTCGGUGUGACCCUACUCUUU    5'

```

```

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM  3'
3'  MMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY    5'

```

ARNic de siHSP47-6 contra ADNc 446-464 de hsp47 humana que tiene una región de dúplex de 19 unidades y salientes de 2 nucleótidos modificados (concretamente desoxinucleótidos) en los extremos 3' de las hebras codificante y anticodificante.

```

5'      GCAGCAAGCAGCACUACAAdTdT  3'
3'  dTdTTCGUCGUUCGUCGUGAUGUU    5'

```

```

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM  3'
3'  MMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY    5'

```

ARNic de siHSP47-7 contra ADNc 692-710 de hsp47 humana que tiene una región de dúplex de 19 unidades y salientes de 2 nucleótidos modificados (concretamente desoxinucleótidos) en los extremos 3' de las hebras codificante y anticodificante.

```

5'      CCGUGGGUGUCAUGAUGAUdTdT  3'
3'  dTdTGGCACCCACAGUACUACUA    5'

```

```

5'      XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXMM  3'
3'  MMYYYYYYYYYYYYYYYYYYYY    5'

```

Muestras y huecos en las hebras de ácido nucleico

Las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) proporcionadas en la presente memoria pueden tener una hebra, preferiblemente la hebra codificante, que tiene muescas o huecos. Como tales, las moléculas de ácido nucleico pueden tener tres o más hebras, por ejemplo, tal como el ARN merodúplex (ARNmd) dado a conocer en la solicitud de patente internacional nº PCT/US07/081836. Las moléculas de ácido nucleico con una hebra con muescas o huecos pueden ser de entre 1-49 nucleótidos, o pueden ser de longitud de RISC (p.ej., de aproximadamente 15 a 25 nucleótidos) o longitud de sustrato de Dicer (p.ej., de aproximadamente 25 a 30 nucleótidos) tal como se da a conocer en la presente memoria.

Las moléculas de ácido nucleico con tres o más hebras incluyen, por ejemplo, una hebra "A" (anticodificante), "S1" (segunda) hebra y "S2" (tercera) hebra en que las hebras "S1" y "S2" son complementarias de y forman pares de bases con regiones no superpuestas de la hebra "A" (p.ej., un ARNmd puede tener la forma de A:S1S2). Las hebras S1, S2 o más forman conjuntamente lo que es sustancialmente similar a una hebra codificante de la hebra anticodificante "A". La región bicatenaria formada por la reasociación de las hebras "S1" y "A" es distinta de y no superponible con la región bicatenaria formada por la reasociación de las hebras "S2" y "A". Una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) puede ser una molécula "con huecos", lo que significa un "hueco" en el intervalo de 0 nucleótidos hasta aproximadamente 10 nucleótidos (p.ej., 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos). Preferiblemente, la hebra codificante tiene huecos. En algunas realizaciones, el dúplex A:S1 está separado del dúplex A:S2 por un hueco resultante de al menos un nucleótido no apareado (hasta aproximadamente 10 nucleótidos no apareados) en la hebra "A" que está situado entre el dúplex A:S1 y el dúplex A:S2 y que es distinto de uno cualquiera o más de los nucleótidos no apareados en el extremo 3' de una o más de las hebras "A", "S1" o "S2". El dúplex A:S1 puede estar separado del dúplex A:S2 por un hueco de 0 nucleótidos (concretamente una muesca en que solo se rompe o falta un enlace fosfodiéster entre dos nucleótidos en la molécula polinucleotídica) entre el dúplex A:S1 y el dúplex A:S2, al que puede hacerse referencia también como ARNbc con muesca (ARNbcm). Por ejemplo, un A:S1S2 puede incluir un ARNbc que tiene al menos dos regiones bicatenarias que combinaban en total aproximadamente 14 pares de bases a aproximadamente 40 pares de bases, y las regiones bicatenarias están separadas por un hueco de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 nucleótidos, teniendo opcionalmente extremos romos, o un A:S1S2 puede incluir un ARNbc que tiene al menos dos regiones bicatenarias separadas por un hueco de hasta 10 nucleótidos, en el que al menos una de las regiones bicatenarias incluye entre aproximadamente 5 pares de bases y 13 pares de bases.

Sustratos de Dicer

En ciertas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico (p.ej., moléculas de ANic) proporcionadas en la presente memoria pueden ser una molécula precursora "sustrato de Dicer", p.ej., ácido nucleico bicatenario procesado *in vivo* para producir moléculas de ácido nucleico activas, por ejemplo como se describe en Rossi, solicitud de patente de EE.UU. n° 20050244858. En ciertas condiciones y situaciones, se ha encontrado que estas especies de ANic de ARNbc relativamente más largas, p.ej., de aproximadamente 25 a aproximadamente 30 nucleótidos, pueden dar resultados inesperadamente eficaces en términos de potencia y duración de acción. Sin desear ligarse a teoría particular alguna, se cree que las especies de ARNbc más largas sirven como sustrato para la enzima Dicer en el citoplasma de una célula. Además de escindir el ácido nucleico bicatenario en segmentos más cortos, Dicer puede facilitar la incorporación de un producto de escisión monocatenario derivado de ARNbc escindido en el complejo silenciador inducido por ARN (complejo RISC) que es responsable de la destrucción del ARN citoplasmático derivado del gen diana.

Los sustratos de Dicer pueden tener ciertas propiedades que potencian su procesamiento por Dicer. Los sustratos de Dicer son de una longitud suficiente tal que se procesan por Dicer produciendo una molécula de ácido nucleico activa, y pueden incluir adicionalmente una o más de las siguientes propiedades: (i) el ARNbc es asimétrico, p.ej., tiene un saliente 3' en la primera hebra (hebra anticodificante) y (ii) el ARNbc tiene un extremo 3' modificado en la hebra anticodificante (hebra codificante) para dirigir la orientación de la unión y procesamiento por Dicer del ARNbc hasta un ARNbc activo. En ciertas realizaciones, la hebra más larga en el sustrato de Dicer puede ser de 24-30 nucleótidos.

Los sustratos de Dicer pueden ser simétricos o asimétricos. El sustrato de Dicer puede tener una hebra codificante que incluye 22-28 nucleótidos y la hebra anticodificante puede incluir 24-30 nucleótidos, por tanto, en algunas realizaciones, el sustrato de Dicer resultante puede tener un saliente en el extremo 3' de la hebra anticodificante. El sustrato de Dicer puede tener una hebra codificante de 25 nucleótidos de longitud y la hebra anticodificante tener 27 nucleótidos de longitud con un saliente 3' de 2 bases. El saliente puede ser de 1-3 nucleótidos, por ejemplo de 2 nucleótidos. La hebra codificante puede tener también un 5'-fosfato.

Un sustrato de Dicer asimétrico puede contener adicionalmente dos desoxinucleótidos en el extremo 3' en lugar de 2 de los ribonucleótidos. Son algunas longitudes y estructuras de sustratos de Dicer ejemplares 21+0, 21+2, 21-2, 22+0, 22+1, 22-1, 23+0, 23+2, 23-2, 24+0, 24+2, 24-2, 25+0, 25+2, 25-2, 26+0, 26+2, 26-2, 27+0, 27+2 y 27-2.

La hebra codificante de un sustrato de Dicer puede ser de entre aproximadamente 22 a aproximadamente 30 (p.ej., aproximadamente 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30); de aproximadamente 22 a aproximadamente 28; de aproximadamente 24 a aproximadamente 30; de aproximadamente 25 a aproximadamente 30; de aproximadamente 26 a aproximadamente 30; de aproximadamente 26 y 29; o de aproximadamente 27 a aproximadamente 28 nucleótidos de longitud. En ciertas realizaciones preferidas, los sustratos de Dicer contienen hebras codificante y no codificante que son de al menos aproximadamente 25 nucleótidos de longitud y no mayores de aproximadamente 30 nucleótidos, entre aproximadamente 26 y 29 nucleótidos o de 27 nucleótidos de longitud. Las hebras codificante y anticodificante pueden ser de la misma longitud (extremos romos), diferentes longitudes (tener salientes) o una combinación. Las hebras codificante y anticodificante pueden existir en el mismo polinucleótido o en diferentes polinucleótidos. Un sustrato de Dicer puede tener una región de dúplex de aproximadamente 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o 27 nucleótidos.

Como otras moléculas de ANic proporcionadas en la presente memoria, la hebra anticodificante de un sustrato de Dicer puede tener cualquier secuencia que se reasocie con la hebra anticodificante en condiciones biológica, tal como en el citoplasma de una célula eucariótica.

Los sustratos de Dicer pueden tener cualquier modificación en la base nucleotídica, azúcar o esqueleto de fosfato como es conocido en la materia y/o como se describe en la presente memoria para otras moléculas de ácido nucleico (tales como moléculas de ANic). En ciertas realizaciones, los sustratos de Dicer pueden tener una hebra codificante que está modificada para procesamiento por Dicer mediante modificadores adecuados localizados en el extremo 3' de la hebra codificante, concretamente el ARNbc está diseñado para dirigir la orientación de la unión y procesamiento de Dicer. Los modificadores adecuados incluyen nucleótidos tales como desoxirribonucleótidos, didesoxirribonucleótidos, acilonucleótidos y similares y moléculas estéricamente impedidas tales como moléculas fluorescentes y similares. Los acilonucleótidos sustituyen por un grupo 2-hidroxi-etoximetilo el azúcar 2'-desoxirribofuranosilo normalmente presente en dNMP. Otros modificadores nucleotídicos que podrían usarse en moléculas de ANic sustratos de Dicer incluyen 3'-desoxiadenosina (cordicepina), 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT), 2',3'-didesoxiinosina (ddI), 2',3'-didesoxi-3'-tiacitidina (3TC), 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina (d4T) y los nucleótidos monofosfato de 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT), 2',3'-didesoxi-3'-tiacitidina (3TC) y 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina (d4T). En una realización, se usan desoxinucleótidos como modificadores. Cuando se utilizan modificadores nucleotídicos, pueden reemplazar a ribonucleótidos (p.ej., 1-3 modificadores nucleotídicos, o 2 modificadores nucleotídicos, sustituyen a los ribonucleótidos en el extremo 3' de la hebra codificante) de tal modo que la longitud del sustrato de Dicer no cambia. Cuando se utilizan moléculas impedidas estéricamente, pueden estar conectadas con el ribonucleótido en el extremo 3' de la hebra anticodificante. Por tanto, en ciertas

realizaciones, la longitud de la hebra no cambia con la incorporación de los modificadores. En ciertas realizaciones, hace una sustitución con dos bases de ADN en el ARNbc para dirigir la orientación del procesamiento por Dicer de la hebra anticodificante. En una realización adicional, las dos bases de ADN terminales sustituyen a dos ribonucleótidos en el extremo 3' de la hebra codificante, formando un extremo romo del dúplex en el extremo 3' de la hebra codificante y el extremo 5' de la hebra anticodificante, y se localiza un saliente de ARN de 2 nucleótidos en el extremo 3' de la hebra anticodificante. Esta es una composición asimétrica, con ADN en el extremo romo y bases de ARN en el extremo saliente.

En ciertas realizaciones, se incluyen modificaciones en el sustrato de Dicer tales que la modificación no evite que la molécula de ácido nucleico sirva como sustrato de Dicer. En una realización, se hacen una o más modificaciones que potencian el procesamiento por Dicer del sustrato de Dicer. Pueden hacerse una o más modificaciones que den como resultado una generación de iARN más eficaz. Pueden hacerse una o más modificaciones que apoyen un mayor efecto de iARN. Se hacen una o más modificaciones que den como resultado una mayor potencia para cada sustrato de Dicer para suministrar a la célula. Pueden incorporarse las modificaciones a la región 3'-terminal, la región 5'-terminal, ambas regiones 3'-terminal y 5'-terminal o a diversas posiciones en la secuencia. Puede incorporarse cualquier número y combinación de modificaciones al sustrato de Dicer, siempre que la modificación no evite que la molécula de ácido nucleico sirva como sustrato para Dicer. Cuando están presentes múltiples modificaciones, pueden ser iguales o diferentes. Se contemplan las modificaciones de bases, restos de azúcar, esqueleto de fosfato y sus combinaciones. Puede estar fosforilado cualquier extremo 5'.

Los ejemplos de modificaciones del esqueleto de fosfato del sustrato de Dicer incluyen fosfonatos, incluyendo modificaciones de metilfosfonato, fosforotioato y fosfotriéster tales como alquilfosfotriésteres y similares. Los ejemplos de modificaciones del resto azúcar de sustrato de Dicer incluyen modificaciones con 2'-alquilpirimidina tales como 2'-O-metilo, 2'-fluoro, amino y desoxilo y similares (véase, p.ej., Amarzguioui *et al.*, 2003). Los ejemplos de modificaciones del grupo básico del sustrato de Dicer incluyen azúcares abásicos, pirimidinas modificadas con 2'-O-alquilo, 4-tiouracilo, 5-bromouracilo, 5-yodouracilo y 5-(3-aminoalil)uracilo y similares. Podrían incorporarse también ácidos nucleicos bloqueados, o ANB.

La hebra codificante puede modificarse para procesamiento por Dicer mediante modificadores adecuados localizados en el extremo 3' de la hebra codificante, concretamente el sustrato de Dicer se diseña para dirigir la orientación de la unión y procesamiento por Dicer. Los modificadores adecuados incluyen nucleótidos tales como desoxirribonucleótidos, didesoxirribonucleótidos, aciclonucleótidos y similares, y moléculas estéricamente impedidas tales como moléculas fluorescentes y similares. Los aciclonucleótidos sustituyen por un grupo 2-hidroxietoximetilo el azúcar 2'-desoxirribofuranosilo normalmente presente en dNMP. Otros modificadores nucleotídicos podrían incluir 3'-desoxiadenosina (cordicepina), 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT), 2',3'-didesoxiinosina (ddl), 2',3'-didesoxi-3'-tiacitidina (3TC), 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina (d4T) y los nucleótidos monofosfato de 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT), 2',3'-didesoxi-3'-tiacitidina (3TC) y 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina (d4T). En una realización, se usan desoxinucleótidos como modificadores. Cuando se utilizan modificadores nucleotídicos, se sustituyen por 1-3 modificadores nucleotídicos, o 2 modificadores nucleotídicos, los ribonucleótidos del extremo 3' de la hebra codificante. Cuando se utilizan moléculas estéricamente impedidas, se conectan con el ribonucleótido en el extremo 3' de la hebra anticodificante. Por tanto, la longitud de la hebra no cambia con la incorporación de los modificadores. En otra realización, la divulgación contempla sustituir por dos bases de ADN en el sustrato de Dicer para dirigir la orientación del procesamiento por Dicer de la hebra anticodificante. En una realización adicional de la presente divulgación, se sustituyen por dos bases de ADN terminales dos ribonucleótidos en el extremo 3' de la hebra codificante, formando un extremo romo del dúplex en el extremo 3' de la hebra codificante y el extremo 5' de la hebra anticodificante, y se localiza un saliente de ARN de dos nucleótidos en el extremo 3' de la hebra anticodificante. Esta es una composición asimétrica con ADN en el extremo romo y bases de ARN en el extremo saliente.

La hebra anticodificante puede modificarse para procesamiento por Dicer mediante modificadores adecuados localizados en el extremo 3' de la hebra anticodificante, concretamente el ARNbc se diseña para dirigir la orientación de la unión y procesamiento por Dicer. Los modificadores adecuados incluyen nucleótidos tales como desoxirribonucleótidos, didesoxirribonucleótidos, aciclonucleótidos y similares, y moléculas estéricamente impedidas tales como moléculas fluorescentes y similares. Los aciclonucleótidos sustituyen por un grupo 2-hidroxietoximetilo el azúcar 2'-desoxirribofuranosilo normalmente presente en dNMP. Otros modificadores nucleotídicos podrían incluir 3'-desoxiadenosina (cordicepina), 3'-azido-3'-adesoxitimidina (AZT), 2',3'-didesoxiinosina (ddl), 2',3'-didesoxi-3'-tiacitidina (3TC), 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina (d4T) y los nucleótidos monofosfato de 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT), 2',3'-didesoxi-3'-tiacitidina (3TC) y 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina (d4T). En una realización, se usan desoxinucleótidos como modificadores. Cuando se utilizan modificadores nucleotídicos, se sustituyen por 1-3 modificadores nucleotídicos, o 2 modificadores nucleotídicos, los ribonucleótidos en el extremo 3' de la hebra anticodificante. Cuando se utilizan moléculas estéricamente impedidas, se conectan con el ribonucleótido en el extremo 3' de la hebra anticodificante. Por tanto, la longitud de la hebra no cambia con la incorporación de los modificadores. En otra realización, la divulgación contempla sustituir por dos bases de ADN en el ARNbc para dirigir la orientación del procesamiento por Dicer. En una divulgación adicional, se localizan dos bases de ADN terminales en el extremo 3' de la hebra anticodificante en lugar de dos ribonucleótidos, formando un extremo romo del dúplex en el extremo 5' de la hebra codificante y el extremo 3' de la hebra anticodificante, y se

localiza un saliente de ARN de 2 nucleótidos en el extremo 3' de la hebra codificante. Esta es una composición asimétrica, con ADN en el extremo romo y bases de ARN en el extremo saliente.

Los sustratos de Dicer con una hebra codificante y otra anticodificante pueden estar ligados por una tercera estructura. La tercera estructura no bloqueará la actividad de Dicer en el sustrato de Dicer y no interferirá con la destrucción dirigida del ARN transcrito desde el gen diana. La tercera estructura puede ser un grupo ligador químico. Los grupos ligadores químicos adecuados son conocidos en la materia y pueden usarse. Como alternativa, la tercera estructura puede ser un oligonucleótido que liga los dos oligonucleótidos del ARNbc de manera tal que se produce una estructura de horquilla tras la reasociación de los dos oligonucleótidos, constituyendo el sustrato de Dicer. La estructura de horquilla preferiblemente no bloquea la actividad de Dicer en el sustrato de Dicer ni interfiere con la destrucción dirigida del ARN transcrito desde el gen diana.

No se requiere que las hebras codificante y anticodificante del sustrato de Dicer sean completamente complementarias. Solo tienen que ser sustancialmente complementarias para reasociarse en condiciones biológicas y para proporcionar un sustrato de Dicer que produzca un ARNbc suficientemente complementario de la secuencia diana.

El sustrato de Dicer puede tener ciertas propiedades que potencian su procesamiento por Dicer. El sustrato de Dicer puede tener una longitud suficiente tal que sea procesado por Dicer produciendo una molécula de ácido nucleico activa (p.ej., ARNbc) y puede tener una o más de las siguientes propiedades: (i) el sustrato de Dicer es asimétrico, p.ej., tiene un saliente 3' en la primera hebra (hebra anticodificante) y (ii) el sustrato de Dicer tiene un extremo 3' modificado en la segunda hebra (hebra codificante) para dirigir la orientación de unión y procesamiento por Dicer del sustrato de Dicer hasta un ARNbc activo. El sustrato de Dicer puede ser asimétrico, de tal modo que la hebra codificante incluya 22-28 nucleótidos y la hebra anticodificante incluya 24-30 nucleótidos. Por tanto, el sustrato de Dicer resultante tiene un saliente en el extremo 3' de la hebra anticodificante. El saliente es de 1-3 nucleótidos, por ejemplo 2 nucleótidos. La hebra codificante puede tener también un fosfato 5'.

Un sustrato de Dicer puede tener un saliente en el extremo 3' de la hebra anticodificante y la hebra codificante estar modificada para procesamiento por Dicer. El extremo 5' de la hebra codificante puede tener un fosfato. Las hebras codificante y anticodificante pueden reasociarse en condiciones biológicas, tales como las condiciones encontradas en el citoplasma de una célula. Una región de una de las hebras, particularmente la hebra anticodificante, del sustrato de Dicer puede tener una longitud de secuencia de al menos 19 nucleótidos, en la que estos nucleótidos están en la región de 21 nucleótidos adyacente al extremo 3' de la hebra anticodificante y son suficientemente complementarios de una secuencia nucleotídica del ARN producido a partir del gen diana. Un sustrato de Dicer puede tener también una o más de las siguientes propiedades adicionales: (a) la hebra anticodificante tiene un desplazamiento a la derecha a partir de las correspondientes 21 unidades (concretamente, la hebra anticodificante incluye nucleótidos en el lado derecho de la molécula cuando se compara con las correspondientes 21 unidades), (b) las hebras pueden no ser completamente complementarias, concretamente, las hebras pueden contener desapareamientos sencillos y (c) pueden incluirse modificaciones de bases tales como un ácido o ácidos nucleicos bloqueados en el extremo 5' de la hebra codificante.

Una hebra anticodificante de una molécula de ácido nucleico sustrato de Dicer puede modificarse para incluir 1-9 ribonucleótidos en el extremo 5', dando una longitud de 22-28 nucleótidos. Cuando la hebra anticodificante tiene una longitud de 21 nucleótidos, entonces pueden añadirse 1-7 ribonucleótidos o 2-5 ribonucleótidos y/o 4 ribonucleótidos al extremo 3'. Los ribonucleótidos añadidos pueden tener cualquier secuencia. Aunque los ribonucleótidos añadidos pueden ser complementarios de la secuencia del gen diana, no se requiere una complementariedad total entre la secuencia diana y las hebras anticodificantes. Es decir, la hebra anticodificante resultante es suficientemente complementaria de la secuencia diana. Una hebra codificante puede tener 24-30 nucleótidos. La hebra codificante puede ser sustancialmente complementaria de la hebra anticodificante para reasociarse con la hebra anticodificante en condiciones biológicas. En una realización, puede sintetizarse una hebra anticodificante que contiene un extremo 3' modificado para dirigir el procesamiento por Dicer. La hebra codificante puede tener un saliente 3'. Puede sintetizarse una hebra anticodificante que contiene un extremo 3' modificado para unión y procesamiento por Dicer y la hebra codificante tiene un saliente 3'.

Proteína de choque térmico 47

La proteína de choque térmico 47 (HSP47) es una chaperona molecular específica de colágeno y reside en el retículo endoplasmático. Interacciona con el procógeno durante el proceso de plegamiento, ensamblado y transporte desde el retículo endoplasmático (Nagata, *Trends Biochem. Sci.* 1996; 21: 22-6; Razzaque *et al.* 2005; *Contrib. Nephrol.* 2005; 148: 57-69; Koide *et al.* 2006 *J. Biol. Chem.*; 281: 3432-38; Leivo *et al.* *Dev. Biol.* 1980; 76: 100-114; Masuda *et al.* *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 2481-2488; Masuda *et al.* *Cell Stress Chaperones* 1998; 3: 256-264). Se ha reseñado que HSP47 tiene una expresión regulada positivamente en diversas fibrosis de tejido (Koide *et al.* *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 34523-26) tales como cirrosis hepática (Masuda *et al.* *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 2481-8), fibrosis pulmonar (Razzaque *et al.* *Virchows Arch.* 1998; 432: 455-60; Kakugawa *et al.* *Eur. Respir. J.* 2004; 24: 570-65) y glomeruloesclerosis (Moriyama *et al.* *Kidney Int.* 1998; 54: 110-19). Se da a conocer una secuencia de ácido nucleico ejemplar de ADNc de hsp47 humana diana en el número de acceso a GenBank: NM_001235 y la

correspondiente secuencia de ARNm, por ejemplo como se enumera como SEQ ID NO: 1. Un especialista en la materia entendería que una secuencia dada puede cambiar con el tiempo e incorporar cualquier cambio necesario a las moléculas de ácido nucleico de la presente memoria por consiguiente.

La asociación específica de HSP47 con un diverso intervalo de tipos de colágeno hace a HSP47 una diana potencial para el tratamiento de la fibrosis. La inhibición de la expresión de hsp47 puede prevenir la secreción de colágeno I extracelular. Sato *et al.* (*Nat. Biotechnol.* 2008; 26: 431-442) exploraron esta posibilidad usando ARNic para la inhibición de la expresión de hsp47 y la prevención de la progresión de fibrosis hepática en ratas. De forma similar, Chen *et al.* (*Br. J. Dermatol.* 2007; 156: 1188-1195) y Wang *et al.* (*Plast. Reconstr. Surg.* 2003; 111: 1980-7) investigaron la inhibición de la expresión de hsp47 por tecnología de interferencia de ARN.

Procedimientos y composiciones para inhibir hsp47

Se proporcionan composiciones y procedimientos para la inhibición de la expresión de hsp47 usando moléculas de ácido nucleico pequeñas, tales como moléculas de ácido nucleico interferente corto (ANic), ARN interferente (ARNi), ARN interferente corto (ARNic), ARN bicatenario (ARNbc), microARN (miARN) y ARN de horquilla corto (ARNhc) capaces de mediar o que median la interferencia de ARN contra la expresión génica de hsp47. La composición y procedimientos dados a conocer en la presente memoria son también útiles para tratar diversas fibrosis tales como fibrosis hepática, fibrosis de pulmón y fibrosis renal.

Se usan la molécula o moléculas de ácido nucleico y/o procedimientos de la divulgación para regular negativamente la expresión de un gen o genes que codifican ARN a los que se hace referencia, por ejemplo, en el acceso a Genbank NM_001235.

Las composiciones, procedimientos y kits proporcionados en la presente memoria pueden incluir una o más moléculas de ácido nucleico (p.ej., ARNic) y procedimientos que modulan (p.ej. regulan negativamente) independientemente o en combinación la expresión de la proteína hsp47 y/o genes que codifican proteínas hsp47, proteínas y/o genes que codifican hsp47 asociados al mantenimiento y/o el desarrollo de enfermedades, afecciones o trastornos asociados a hsp47, tales como fibrosis hepática, cirrosis, fibrosis pulmonar, fibrosis renal, fibrosis peritoneal, daño hepático crónico y fibrillogénesis (p.ej., secuencias que codifican genes que comprenden aquellas secuencias a las que se hace referencia en los n° de acceso a GenBank NM_001235), o un miembro de la familia génica de hsp47 en que las secuencias de los genes o familia de genes comparten homología de secuencia. Se proporciona la descripción de los diversos aspectos y realizaciones con referencia al gen de hsp47 ejemplar. Sin embargo, los diversos aspectos y realizaciones están también dirigidos a otros genes de hsp47 relacionados, tales como genes homólogos y variantes de transcrito y polimorfismos (p.ej., polimorfismo de nucleótido simple, (SNP)) asociados a ciertos genes de hsp47. Como tales, los diversos aspectos y realizaciones están también dirigidos a otros genes que están implicados en las rutas de transducción de señal o expresión génica mediadas por hsp47 que están implicadas, por ejemplo, en el mantenimiento o desarrollo de enfermedades, rasgos o afecciones descritos en la presente memoria. Estos genes adicionales pueden analizarse para sitios diana usando los procedimientos descritos para el gen de hsp47 de la presente memoria. Por tanto, puede efectuarse, determinarse y medirse la modulación de otros genes y los efectos de dicha modulación de los otros genes como se describe en la presente memoria.

En una realización, las composiciones y procedimientos proporcionados en la presente memoria incluyen una molécula de ácido nucleico interferente corta bicatenaria (ANic) que regula negativamente la expresión de un gen de hsp47 (p.ej., de hsp47 humano ejemplificado por la SEQ ID NO: 1), en que la molécula de ácido nucleico incluye de aproximadamente 15 a aproximadamente 49 pares de bases.

En una realización, puede usarse un ácido nucleico dado a conocer para inhibir la expresión del gen de hsp47 o una familia génica de hsp47 en que las secuencias de los genes o familia génica comparten homología de secuencia. Dichas secuencias homólogas pueden identificarse como es conocido en la materia, por ejemplo usando alineamientos de secuencia. Las moléculas de ácido nucleico pueden diseñarse para orientarse a dichas secuencias homólogas, por ejemplo usando secuencias perfectamente complementarias o incorporando pares de bases no canónicos, por ejemplo desapareamientos y/o pares de bases oscilantes, que pueden proporcionar secuencias diana adicionales. En casos en que se identifican desapareamientos, pueden usarse pares de bases no canónicos (por ejemplo, desapareamientos y/o bases oscilantes) para generar moléculas de ácido nucleico que se orientan a más de una secuencia génica. En un ejemplo no limitante, se usan pares de bases no canónicos tales como pares de bases UU y CC para generar moléculas de ácido nucleico que son capaces de orientarse a secuencias para diferentes dianas de hsp47 que comparten homología de secuencia. Como tal, una de las ventajas de usar los ANic dados a conocer en la presente memoria es que puede diseñarse un solo ácido nucleico para incluir una secuencia de ácido nucleico que es complementaria de la secuencia de ácido nucleico que se conserva entre los genes homólogos. En este enfoque, puede usarse un solo ácido nucleico para inhibir la expresión de más de un gen en lugar de usar más de una molécula de ácido nucleico para orientarse a diferentes genes.

Las moléculas de ácido nucleico pueden usarse para orientarse a secuencias conservadas diana correspondientes a una familia génica o familias génicas tales como genes de la familia de hsp47. Como tales, las moléculas de ácido

nucleico orientadas a múltiples dianas de hsp47 pueden proporcionar un efecto terapéutico aumentado. Además, puede usarse el ácido nucleico para caracterizar las rutas de la función génica en una variedad de aplicaciones. Por ejemplo, pueden usarse las moléculas de ácido nucleico para inhibir la actividad del gen o genes diana en una ruta para determinar la función de un gen o genes no caracterizados en el análisis de la función génica, el análisis de la función de ARNm o el análisis traduccional. Las moléculas de ácido nucleico pueden usarse para determinar las rutas del gen diana potenciales implicadas en diversas enfermedades y afecciones para el desarrollo farmacéutico. Las moléculas de ácido nucleico pueden usarse para entender las rutas de expresión génica implicadas, por ejemplo, en fibrosis tales como fibrosis hepática, renal o pulmonar y/o rasgos, trastornos y/o afecciones inflamatorias y proliferativos.

En una realización, las composiciones y procedimientos proporcionados en la presente memoria incluyen una molécula de ácido nucleico que tiene actividad de iARN contra ARN de hsp47, en que la molécula de ácido nucleico incluye una secuencia complementaria de cualquier ARN que tenga una secuencia que codifica hsp47, tal como aquellas secuencias que tienen secuencias como se muestran en la Tabla I. En otra realización, una molécula de ácido nucleico puede tener actividad de iARN contra ARN de hsp47, en que la molécula de ácido nucleico incluye una secuencia complementaria de un ARN que tiene una secuencia de codificación de hsp47 variante, por ejemplo otros genes de hsp47 mutantes no mostrados en la Tabla I pero conocidos en la materia por estar asociados al mantenimiento y/o desarrollo de fibrosis. Pueden aplicarse las modificaciones químicas como se muestran en la Tabla I o descritas de otro modo en la presente memoria a cualquier constructo de ácido nucleico dado a conocer en la presente memoria. En otra realización, una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria incluye una secuencia nucleotídica que puede interactuar con la secuencia nucleotídica de un gen de hsp47 y mediar así el silenciamiento de la expresión del gen de hsp47, por ejemplo, en la que la molécula de ácido nucleico media la regulación de la expresión del gen de hsp47 mediante procesos celulares que modulan la estructura de cromatina o los patrones de metilación del gen de hsp47 y evitan la transcripción del gen de hsp47.

Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria pueden tener actividad de iARN contra ARN de hsp47, en que la molécula de ácido nucleico incluye una secuencia complementaria de cualquier ARN que tenga una secuencia codificante de hsp47, tal como aquellas secuencias que tienen los nº de acceso a GenBank NM_001235. Las moléculas de ácido nucleico pueden tener actividad de iARN contra ARN de hsp47, en que la molécula de ácido nucleico incluye una secuencia complementaria de un ARN que tiene una secuencia codificante de hsp47 variante, por ejemplo otros genes de hsp47 mutantes conocidos en la materia por estar asociados al mantenimiento y/o desarrollo de fibrosis. Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria incluyen una secuencia nucleotídica que puede interactuar con la secuencia nucleotídica de un gen de hsp47 y mediar así el silenciamiento de la expresión del gen de hsp47, p.ej., en que la molécula de ácido nucleico media la regulación de la expresión del gen de hsp47 mediante procesos celulares que modulan la estructura de cromatina o patrones de metilación del gen de hsp47 y evitan la transcripción del gen de hsp47.

Procedimientos de tratamiento

La asociación específica de HSP47 con un diverso intervalo de tipos de colágeno hace a hsp47 una diana para el tratamiento de la fibrosis. La inhibición de la expresión de hsp47 puede evitar la secreción de colágeno I extracelular. Sato *et al.* (Nat. Biotechnol. 2008; 26: 431-442) exploraron esta posibilidad usando ARNip para la inhibición de la expresión de hsp47 y la prevención de la progresión de fibrosis hepática en ratas. De forma similar, Chen *et al.* (Br. J. Dermatol. 2007; 156: 1188-1195) y Wang *et al.* (Plast. Reconstr. Surg. 2003; 111: 1980-7) investigaron la inhibición de la expresión de hsp47 por tecnología de interferencia de ARN.

En una realización, pueden usarse moléculas de ácido nucleico para regular negativamente o inhibir la expresión de hsp47 y/o proteínas hsp47 que surgen de hsp47 y/o polimorfismos de haplotipo de hsp47 que están asociados a una enfermedad o afección (p.ej., fibrosis). Puede usarse el análisis de los niveles de hsp47 y/o genes de hsp47, o hsp47 y/o proteína hsp47 o ARN para identificar sujetos con dichos polimorfismos o aquellos sujetos que tienen riesgo de desarrollar rasgos, afecciones o enfermedades descritos en la presente memoria. Estos sujetos son susceptibles de tratamiento, por ejemplo tratamiento con moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria y cualquier otra composición útil en el tratamiento de enfermedades relacionadas con hsp47 y/o la expresión del gen de hsp47. Como tal, puede usarse el análisis de los niveles de hsp47 y/o proteína hsp47 o ARN para determinar el tipo de tratamiento y el curso de la terapia en el tratamiento de un sujeto. Puede usarse la monitorización de los niveles de hsp47 y/o proteína hsp47 o ARN para predecir el resultado clínico del tratamiento y determinar la eficacia de compuestos y composiciones que modulan el nivel y/o actividad de ciertas hsp47 y/o proteínas hsp47 asociadas a un rasgo, afección o enfermedad.

Se proporcionan composiciones y procedimientos para la inhibición de la expresión de hsp47 usando moléculas de ácido nucleico pequeñas como se proporcionan en la presente memoria, tales como moléculas de ácido nucleico interferente corto (ANic), ARN interferente (ARNi), ARN interferente corto (ARNic), ARN bicatenario (ARNbc), microARN (miARN) y ARN de horquilla corto (ARNhc) capaces de mediar o que median la interferencia de ARN contra la expresión génica de hsp47. La composición y procedimientos dados a conocer en la presente memoria son también útiles para tratar diversas fibrosis tales como fibrosis hepática, fibrosis de pulmón y fibrosis renal.

Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria individualmente, o en combinación o junto con otros fármacos, pueden usarse para prevenir o tratar enfermedades, rasgos, afecciones y/o enfermedades asociadas a hsp47, tales como fibrosis hepática, cirrosis, fibrosis pulmonar, fibrosis renal, fibrosis peritoneal, daño hepático crónico y fibrillogénesis.

Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria son capaces de inhibir la expresión de hsp47 de manera específica de secuencia. Las moléculas de ácido nucleico pueden incluir una hebra codificante y una hebra anticodificante que incluyen nucleótidos contiguos que son al menos parcialmente complementarios (anticodificante) de un ARNm de hsp47.

En algunas realizaciones, puede usarse ARNbc específico de hsp47 junto con otros ARNbc específicos de otras chaperonas moleculares que ayudan al plegamiento de proteínas recién sintetizadas, tales como calnexina, calreticulina, BiP (Bergeron *et al.* Trends Biochem. Sci. 1994; 19:124-128; Herbert *et al.* 1995; Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 60: 405-415).

La fibrosis puede tratarse por interferencia de ARN usando moléculas de ácido nucleico como se dan a conocer en la presente memoria. Las fibrosis ejemplares incluyen fibrosis hepática, fibrosis peritoneal, fibrosis de pulmón y fibrosis renal. Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria pueden inhibir la expresión de hsp47 de manera específica de secuencia.

Puede monitorizarse el tratamiento de fibrosis determinando el nivel de colágeno extracelular usando técnicas adecuadas conocidas en la materia tales como usando anticuerpos anti-colágeno I. El tratamiento puede monitorizarse también determinando el nivel de ARNm de hsp47 o el nivel de proteína HSP47 en las células del tejido afectado. El tratamiento puede monitorizarse también mediante cribado no invasivo del órgano o tejido afectado tal como por tomografía computerizada o elastografías de resonancia magnética.

Un procedimiento para tratar o prevenir una enfermedad o afección asociada a hsp47 en un sujeto u organismo puede incluir poner en contacto el sujeto u organismo con una molécula de ácido nucleico como se proporciona en la presente memoria en condiciones adecuadas para modular la expresión del gen de hsp47 en el sujeto u organismo.

Un procedimiento para tratar o prevenir la fibrosis en un sujeto u organismo puede incluir poner en contacto el sujeto u organismo con una molécula de ácido nucleico en condiciones adecuadas para modular la expresión del gen de hsp47 en el sujeto u organismo.

Un procedimiento para tratar o prevenir una o más fibrosis seleccionadas del grupo consistente en fibrosis hepática, fibrosis renal y fibrosis pulmonar en un sujeto u organismo puede incluir poner en contacto el sujeto u organismo con una molécula de ácido nucleico en condiciones adecuadas para modular la expresión de un gen de hsp47 en el sujeto u organismo.

Enfermedades fibróticas

Las enfermedades fibróticas se caracterizan generalmente por la deposición en exceso de material fibroso en la matriz extracelular, lo que contribuye a cambios anormales en la arquitectura del tejido e interfiere con la función normal de órganos.

Todos los tejidos dañados por traumatismos responden mediante el inicio de un programa de curación de herida. La fibrosis, un tipo de trastorno caracterizado por una cicatrización excesiva, aparece cuando se altera el proceso autolimitado normal de curación de herida, y causa una producción y deposición excesivas de colágeno. Como resultado, se reemplaza tejido de órgano normal por tejido cicatricial, lo que eventualmente conduce al fallo funcional del órgano.

La fibrosis puede iniciarse por diversas causas y en diversos órganos. Cirrosis hepática, fibrosis pulmonar, sarcoidosis, queloides y fibrosis renal son todas afecciones crónicas asociadas a fibrosis progresiva, causando así una pérdida continua de función del tejido normal.

La fibrosis aguda (habitualmente con un inicio repentino y grave y de corta duración) aparece como respuesta común a diversas formas de traumatismo, incluyendo lesiones accidentales (particularmente lesiones de la médula y sistema nervioso central), infecciones, cirugía, dolencias isquémicas (p.ej., cicatrización cardíaca después de ataque cardíaco), quemaduras, contaminantes ambientales, alcohol y otros tipos de toxinas, síndrome de dificultad respiratoria aguda, tratamientos de radioterapia y quimioterapia).

La fibrosis, una patología relacionada con la fibrosis o una patología relacionada con la reticulación aberrante de proteínas celulares pueden tratarse todas por los ARNics dados a conocer en la presente memoria. Las enfermedades fibróticas o enfermedades en que es evidente la fibrosis (patología relacionada con la fibrosis) incluyen las formas tanto aguda como crónica de fibrosis de órganos, incluyendo todas las variantes etiológicas de las siguientes: fibrosis pulmonar, incluyendo enfermedad pulmonar intersticial y enfermedad pulmonar fibrótica,

fibrosis hepática, fibrosis cardiaca incluyendo fibrosis miocárdica, fibrosis renal incluyendo insuficiencia renal crónica, fibrosis cutánea incluyendo escleroderma, queloides y cicatrices hipertróficas; mielofibrosis (fibrosis de médula ósea); todos los tipos de cicatrización ocular incluyendo vitreorretinopatía proliferativa (VRP) y cicatrización resultante de cirugía para tratar cataratas o glaucoma; enfermedad intestinal inflamatoria de etiología variable, degeneración macular, oftalmopatía de Grave, ergotismo inducido por fármacos, cicatrices queloides, escleroderma, psoriasis, glioblastoma en síndrome de Li-Fraumeni, glioblastoma esporádico, leucemia mieloide, leucemia mielógena aguda, síndrome mielodisplásico, síndrome mieloproferativo, cáncer ginecológico, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Hansen y colitis colagenosa.

En diversas realizaciones, los compuestos (moléculas de ácido nucleico) como se dan a conocer en la presente memoria pueden usarse para tratar enfermedades fibróticas, por ejemplo como se dan a conocer en la presente memoria, así como muchas otras enfermedades y afecciones aparte de enfermedades fibróticas, por ejemplo tales como se dan a conocer en la presente memoria. Otras afecciones para tratar incluyen enfermedades fibróticas en otros órganos: fibrosis renal por cualquier razón (ERC incluyendo ERET); fibrosis de pulmón (incluyendo FPI); mielofibrosis, cicatrización anormal (queloides) asociada a todos los tipos posibles de lesión cutánea accidental y yatrogénica (operaciones), escleroderma, cardiofibrosis, fallo de la operación de filtración de glaucoma y adhesiones intestinales.

Cirugía ocular y complicaciones fibróticas

Puede ocurrir a menudo la contractura del tejido cicatricial resultante de cirugía ocular. La cirugía de glaucoma para crear nuevos canales de drenaje a menudo falla debido a la cicatrización y contracción de tejidos y el sistema de drenaje generado puede bloquearse, requiriendo una intervención quirúrgica adicional. Los regímenes anticicatrizantes actuales (mitomicina C o 5-FU) están limitados debido a las complicaciones implicadas (p.ej. ceguera) p.ej. véase Cordeiro M F, *et al.*, "Human anti-transforming growth factor-beta2 antibody: a new glaucoma anti-scarring agent" *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* septiembre de 1999; 40 (10): 2225-34. Puede haber también contracción del tejido cicatricial formado después de traumatismo corneal o cirugía corneal, por ejemplo tratamiento láser o quirúrgico por miopía o error refractivo en que la contracción de tejidos puede conducir a resultados inexactos. El tejido cicatricial puede formarse sobre/en el humor vítreo o la retina, por ejemplo, y puede causar eventualmente ceguera en algunos diabéticos, y puede formarse después de cirugía de desprendimiento, llamada vitreorretinopatía proliferativa (VRP). La VRP es la complicación más común después de desprendimiento de retina y está asociada a un orificio o rotura retinal. La VRP hace referencia al crecimiento de membranas celulares en la cavidad vítrea y sobre las superficies delantera y trasera de la retina que contienen células epiteliales pigmentadas retinales (EPR). Estas membranas, que son esencialmente tejidos cicatriciales, ejercen una tracción sobre la retina y pueden dar como resultado recaídas del desprendimiento de retina, incluso después de un procedimiento de desprendimiento de retina inicialmente exitoso.

Puede formarse tejido cicatricial en la órbita del ojo y los músculos del párpado después de cirugía de estrabismo, orbital o de párpado o enfermedad ocular tiroidea, y cuando aparece cicatrización de la conjuntiva, como puede suceder después de cirugía de glaucoma o en una enfermedad cicatricial, enfermedad inflamatoria, por ejemplo penfigoide, o enfermedad infecciosa, por ejemplo tracoma. Un problema ocular adicional asociado a la contracción de los tejidos que incluyen colágeno es la opacificación y contractura de la cápsula del cristalino después de extracción de cataratas. Se ha reconocido un papel importante para los MMP en enfermedades oculares incluyendo curación de heridas, ojo seco, ulceración corneal estéril, erosión epitelial recurrente, neovascularización corneal, terigión, conjuntivocalasia, glaucoma, VPR y fibrosis ocular.

Fibrosis hepática

La fibrosis hepática (FH) es una consecuencia generalmente irreversible del daño hepático de varias etiologías. En los países desarrollados, las categorías etiológicas principales son: enfermedad hepática alcohólica (30-50 %), hepatitis vírica (30 %), enfermedad biliar (5-10 %), hemocromatosis primaria (5 %) y cirrosis relacionada con fármacos y criptogénica de etiología desconocida (10-15 %). La enfermedad de Wilson, deficiencia de α_1 -antitripsina y otras enfermedades raras pueden tener también la fibrosis hepática como uno de los síntomas. La cirrosis hepática, la etapa final de la fibrosis hepática, requiere frecuentemente trasplante de hígado y está entre las 10 primeras causas de muerte en los países desarrollados.

Fibrosis renal y afecciones relacionadas

Insuficiencia renal crónica (IRC)

La insuficiencia renal crónica es una pérdida gradual y progresiva de la capacidad de los riñones de excretar desechos, concentrar orina y conservar electrolitos. La IRC es lentamente progresiva. Lo más a menudo es el resultado de cualquier enfermedad que cause una pérdida gradual de la función renal, y la fibrosis es la patología principal que produce IRC.

Nefropatía diabética

La nefropatía diabética, cuyos distintivos son glomeruloesclerosis y fibrosis tubulointersticial, es la causa individual más prevalente de enfermedad renal de etapa terminal en los países desarrollados, y los pacientes diabéticos constituyen la mayor población con diálisis. Dicha terapia es costosa y en absoluto óptima. El trasplante ofrece mejor resultado clínico, pero adolece de una grave escasez de donantes.

Enfermedad renal crónica

La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema sanitario mundial y es reconocida como una afección común que está asociada a un riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular e insuficiencia renal crónica (IRC).

La Iniciativa para la calidad de los resultados clínicos de la enfermedad renal (K/DOQI) de la Fundación nacional del riñón (NKF) define enfermedad renal crónica como cualquiera de daño renal o un índice de filtrado glomerular renal (IFG) disminuido durante 3 o más meses. Son también conocidos otros marcadores de ERC y se usan para diagnóstico. En general, la destrucción de la masa renal con esclerosis irreversible y pérdida de nefronas conduce a una disminución progresiva del IFG. Recientemente, la K/DOQI ha publicado una clasificación de las etapas de ERC como sigue:

Etapas 1: Daño renal con IFG normal o aumentado (>90 ml/min/1,73 m²)

Etapas 2: Reducción leve del IFG (60-89 ml/min/1,73 m²)

Etapas 3: Reducción moderada del IFG (30-59 ml/min/1,73 m²)

Etapas 4: Reducción grave del IFG (15-29 ml/min/1,73 m²)

Etapas 5: Insuficiencia renal (IFG <15 ml/min/1,73 m² o diálisis)

En las etapas 1 y 2 de ERC, el IFG solo no confirma el diagnóstico. Puede basarse en otros marcadores de daño renal, incluyendo anomalías en la composición de sangre u orina o anomalías en las pruebas de imagenología.

Fisiopatología de ERC

Están presentes aproximadamente 1 millón de nefronas en cada riñón, contribuyendo cada una al IFG total. Independientemente de la etiología de la lesión renal, con la destrucción progresiva de nefronas, el riñón es capaz de mantener el IFG mediante hiperfiltración e hipertrofia compensatoria de las nefronas sanas restantes. Esta adaptabilidad de las nefronas permite un aclaramiento normal continuado de los solutos plasmáticos, de modo que sustancias tales como urea y creatinina empiezan a mostrar aumentos significativos en los niveles plasmáticos solo después de que el IFG total haya disminuido al 50 %, cuando la reserva renal se ha agotado. El valor de creatinina plasmática se duplicará aproximadamente con una reducción del 50 % del IFG. Por lo tanto, una duplicación de la creatinina plasmática desde el valor basal de 0,6 mg/dl a 1,2 mg/dl en un paciente representa realmente una pérdida de un 50 % de la masa de nefronas en funcionamiento.

La hiperfiltración e hipertrofia de nefronas residuales, aunque beneficiosas por las razones observadas, se cree que representan una causa importante de disfunción renal progresiva. Se cree que esto ocurre debido a una presión capilar glomerular aumentada, que daña los capilares y conduce inicialmente a glomeruloesclerosis focal y segmental y eventualmente a glomeruloesclerosis global. Esta hipótesis se ha basado en estudios de ratas nefrectomizadas en 5/6, que desarrollan lesiones que son idénticas a las observadas en seres humanos con ERC.

Las dos causas más comunes de enfermedad renal crónica son diabetes e hipertensión. Otros factores incluyen ataques agudos por nefrotoxinas, incluyendo agentes de contraste, o perfusión disminuida, proteinuria; amoniogénesis renal aumentada con lesión intersticial; hiperlipidemia; hiperfosfatemia con deposición de fosfato de calcio; niveles disminuidos de óxido nítrico y tabaquismo.

En los Estados Unidos, la incidencia prevalencia de ERC es creciente, con malos resultados clínicos y alto coste para el sistema sanitario. La enfermedad renal es la novena causa principal de muerte en los EE.UU. La alta tasa de mortalidad ha conducido al decreto del Director general de sanidad de EE.UU. a la ciudadanía estadounidense, "Healthy People 2010", a contener un capítulo centrado en la ERC. Los objetivos de este capítulo son articular objetivos y proporcionar estrategias para reducir la incidencia, morbilidad, mortalidad y costes sanitarios de la enfermedad renal crónica en los Estados Unidos.

Las tasas de incidencia de enfermedad renal de etapa terminal (ERET) han aumentado también constantemente internacionalmente desde 1989. Los Estados Unidos tienen la tasa de incidencia más alta de ERET, seguido de Japón. Japón tiene la incidencia más alta por millón de habitantes, seguido de EE.UU.

Las tasas de mortalidad asociadas a la hemodiálisis son notables e indican que la esperanza de vida de los pacientes que entran en hemodiálisis se acorta notablemente. A cualquier edad, los pacientes con ERET en diálisis tienen una mortalidad significativamente aumentada cuando se compara con los pacientes sin diálisis e individuos sin enfermedad renal. A la edad de 60 años, una persona sana puede esperar vivir más de 20 años, mientras que la

esperanza de vida de un paciente de 60 años que empieza hemodiálisis es cercana a 4 años (Aurora y Verelli, 21 de mayo de 2009. "Chronic Renal Failure: Treatment & Medication". Emedicine. <http://emedicine.medscape.com/article/238798-treatment>).

5 Fibrosis pulmonar

La fibrosis pulmonar intersticial (FPI) es la cicatrización del pulmón causada por una variedad de agentes inhalados incluyendo partículas minerales, polvos orgánicos y gases oxidantes, o por razones desconocidas (fibrosis de pulmón idiopática). La enfermedad afecta a millones de individuos en todo el mundo, y no hay enfoques terapéuticos eficaces. La razón principal para la falta de tratamientos útiles es que pocos de los mecanismos moleculares de la enfermedad se han definido suficientemente para diseñar dianas apropiadas para terapia (Lasky J A., Brody A R. (2000), "Interstitial fibrosis and growth factors", Environ Health Perspect.; 108 Supl 4: 751-62).

15 Fibrosis cardiaca

La insuficiencia cardiaca es única entre los trastornos cardiovasculares importantes porque es la única en que aumenta la prevalencia, mientras que ha habido una notable disminución de las demás afecciones. Algo de esto puede atribuirse al envejecimiento de la población de los Estados Unidos y Europa. La capacidad de recuperación de los pacientes con daño miocárdico es también un factor importante, ya que estos pacientes pueden desarrollar progresión de la disfunción ventricular izquierda debida a la remodelación nociva del corazón.

El miocardio normal está compuesto por una variedad de células, miocitos cardiacos y no cardiomiocitos, que incluyen células de músculo liso endotelial y vascular y fibroblastos.

La remodelación estructural de la pared ventricular es un determinante clave del resultado clínico en la enfermedad cardiaca. Dicha remodelación implica la producción y destrucción de proteínas de matriz extracelular, la proliferación y migración celular y la muerte celular apoptótica y necrótica. Los fibroblastos cardiacos están implicados crucialmente en estos procesos, produciendo factores de crecimiento y citocinas que actúan como factores autocrinos y paracrinos, así como proteínas y proteinasas de matriz extracelular. Estudios recientes han mostrado que las interacciones entre fibroblastos cardiacos y cardiomiocitos son esenciales para la progresión de la remodelación cardiaca, cuyo efecto neto es el deterioro de la función cardiaca y el inicio de la insuficiencia cardiaca (Manabe I, *et al.*, (2002), "Gene expression in fibroblasts and fibrosis: involvement in cardiac hypertrophy", Circ. Res. 13; 91 (12): 1103-13).

35 Quemaduras y cicatrices

Un problema particular que puede surgir, particularmente en la enfermedad fibrótica, es la contracción de tejidos, por ejemplo la contracción de cicatrices. La contracción de tejidos incluyendo los componentes de la matriz extracelular, especialmente de tejidos que incluyen colágeno, puede ocurrir con relación a muchas afecciones patológicas diferentes y con procedimientos quirúrgicos o cosméticos. La contractura, por ejemplo, de cicatrices puede causar problemas físicos, que pueden conducir a la necesidad de tratamiento médico, o pueden causar problemas de naturaleza puramente cosmética. El colágeno es el componente principal de las cicatrices y otros tejidos contraídos y, como tal, es el componente estructural más importante para considerar. No obstante, las cicatrices y otros tejidos contraídos incluyen también otros componentes estructurales, especialmente otros componentes de matriz extracelular, por ejemplo, elastina, que pueden contribuir también a la contracción del tejido.

La contracción de tejido que incluye colágeno, que puede incluir también otros componentes de matriz extracelular, ocurre frecuentemente en la curación de quemaduras. Las quemaduras pueden ser quemaduras químicas, térmicas o por radiación y pueden ser del ojo, la superficie de la piel o la piel y tejidos subyacentes. Puede ser también el caso de que haya quemaduras en los tejidos internos, por ejemplo causadas por tratamiento de radiación. La contracción de los tejidos quemados es a menudo un problema y puede conducir a problemas físicos y/o cosméticos, por ejemplo pérdida de movimiento y/o desfiguramiento.

Los injertos cutáneos pueden aplicarse por una variedad de razones y pueden experimentar a menudo contracción después de la aplicación. Como con la curación de tejidos quemados, la contracción puede conducir a problemas tanto físicos como cosméticos. Es un problema particularmente grave cuando son necesarios muchos injertos cutáneos como, por ejemplo, en un caso de quemaduras graves.

La contracción es también un problema en la producción de piel artificial. Para preparar una piel artificial auténtica, es necesario tener una epidermis compuesta por células epiteliales (queratinocitos) y una dermis compuesta por colágeno poblado con fibroblastos. Es importante tener ambos tipos de células, porque se señalan y estimulan entre sí usando factores de crecimiento. El componente de colágeno de la piel artificial se contrae a menudo a menos de una décima parte de su área original cuando se puebla con fibroblastos.

La contracción cicatricial, contracción debida a la retracción del tejido fibroso de una cicatriz, es común. En algunos casos, la cicatriz puede volverse una cicatriz defectuosa, una cicatriz en que la contracción causa una grave

deformidad. El estómago de un paciente puede separarse eficazmente en dos cámaras separadas en una contractura de reloj de arena por la contracción del tejido cicatricial formado cuando cura una úlcera de estómago. Puede ocurrir la obstrucción de canales y conductos, estenosis cicatricial, debida a la contracción de tejido cicatricial. La contracción de vasos sanguíneos puede ser debida a obstrucción primaria o traumatismo quirúrgico, por ejemplo después de cirugía o angioplastia. Puede ocurrir también la estenosis de otras vísceras huecas, por ejemplo uréteres. Pueden aparecer problemas cuando tiene lugar cualquier forma de cicatrización, tanto resultante de heridas accidentales como de cirugía. Las afecciones de la piel y tendones que implican la contracción de tejido que incluye colágeno incluyen afecciones postraumáticas resultantes de cirugía o accidentes, por ejemplo, lesiones de tendón de mano o pie, afecciones postinjerto y afecciones patológicas tales como escleroderma, contractura de Dupuytren y epidermólisis ampollosa. La cicatrización y contracción de tejidos en el ojo pueden ocurrir en diversas afecciones, por ejemplo, las secuelas de desprendimiento de retina o retinopatía diabética (como se menciona anteriormente). Puede aparecer la contracción de las cuencas encontradas en el cráneo para los globos oculares y estructuras asociadas, incluyendo músculos extraoculares y párpados, si hay traumatismo o daño inflamatorio. Los tejidos se contraen en las cuencas causando una variedad de problemas, incluyendo visión doble y una apariencia antiestética.

Para información adicional sobre diferentes tipos de fibrosis véanse: Molina V, *et al.*, (2002), "Fibrotic diseases", *Harefuah*, 141 (11): 973-8, 1009; Yu L, *et al.*, (2002), "Therapeutic strategies to halt renal fibrosis", *Curr. Opin. Pharmacol.* 2 (2):177-81; Keane W F y Lyle P A. (2003), "Recent advances in management of type 2 diabetes and nephropathy: lessons from the RENAAL study", *Am. J. Kidney. Dis.* 41 (3 Supl 2): S22-5; Bohle A, *et al.*, (1989), "The pathogenesis of chronic renal failure", *Pathol. Res. Pract.* 185 (4): 421-40; Kikkawa R, *et al.*, (1997), "Mechanism of the progression of diabetic nephropathy to renal failure", *Kidney Int. Suppl.* 62: S39-40; Bataller R y Brenner D A. (2001), "Hepatic stellate cells as a target for the treatment of hepatic fibrosis", *Semin. Liver. Dis.* 21 (3): 437-51; Gross T J y Hunninghake G W, (2001) "Idiopathic pulmonary fibrosis", *N. Engl. J. Med.* 345 (7): 517-25; Frohlich E D. (2001) "Fibrosis and ischemia: the real risks in hypertensive heart disease", *Am. J. Hypertens.* 14 (6 Pt 2): 194S-199S; Friedman S L. (2003), "Hepatic fibrosis —from bench to bedside", *J. Hepatol.* 38 Supl 1:S38-53; Albanis E, *et al.*, (2003), "Treatment of hepatic fibrosis: almost there", *Curr. Gastroenterol. Rep.* 5 (1): 48-56; (Weber K T. (2000), "Fibrosis and hypertensive heart disease", *Curr. Opin. Cardiol.* 15 (4): 264-72).

Suministro de moléculas de ácido nucleico y formulaciones farmacéuticas

Las moléculas de ácido nucleico pueden adaptarse para uso para prevenir o tratar enfermedades, rasgos, afecciones y/o trastornos fibróticos (p.ej., hepáticos, renales, peritoneales y pulmonares), y/o cualquier otro rasgo, enfermedad, trastorno o afección que esté relacionado o responda a los niveles de hsp47 en una célula o tejido, solas o en combinación con otras terapias. Una molécula de ácido nucleico puede incluir un vehículo de suministro, incluyendo liposomas, para administración a un sujeto, portadores y diluyentes y sus sales, y/o puede estar presente en formulaciones farmacéuticamente aceptables.

Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria pueden suministrarse o administrarse directamente con un portador o diluyente, pero no cualquier vehículo de suministro que actúe ayudando, promoviendo o facilitando la entrada en la célula, incluyendo vectores víricos, partículas víricas, formulaciones liposómicas, lipofectina o agentes precipitantes y similares.

Las moléculas de ácido nucleico pueden suministrarse o administrarse a un sujeto mediante aplicación directa de las moléculas de ácido nucleico con un portador o diluyente o cualquier otro vehículo de suministro que actúe ayudando, promoviendo o facilitando la entrada en la célula, incluyendo secuencias víricas, partículas víricas, formulaciones liposómicas, lipofectina o agentes precipitantes y similares. Los polipéptidos que facilitan la introducción de ácido nucleico en un sujeto deseado son tales como aquellos descritos en la publicación de solicitud de EE.UU. n° 20070155658 (p.ej., un derivado de melamina tal como 2,4,6-triguanidinotriazina y 2,4,6-tramidiosarcocilmelamina, un polipéptido de poliarginina y un polipéptido que incluye residuos de glutamina y asparagina alternados).

Se describen procedimientos para el suministro de moléculas de ácido nucleico en Akhtar *et al.*, *Trends Cell. Bio.*, 2: 139 (1992); "Delivery Strategies for Antisense Oligonucleotide Therapeutics", ed. Akhtar, (1995), Maurer *et al.*, *Mol. Membr. Biol.*, 16: 129-140 (1999); Hofland y Huang, *Handb. Exp. Pharmacol.*, 137: 165-192 (1999) y Lee *et al.*, *ACS Symp. Ser.*, 752: 184-192 (2000); patentes de EE.UU. n° 6.395.713, 6.235.310, 5.225.182, 5.169.383, 5.167.616, 4.959.217, 4.925.678, 4.487.603 y 4.486.194 y Sullivan *et al.*, PCT WO 94/02595, PCT WO 00/03683 y PCT WO 02/08754 y la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2003077829. Estos protocolos pueden utilizarse para el suministro de virtualmente cualquier molécula de ácido nucleico. Las moléculas de ácido nucleico pueden administrarse a células mediante una variedad de procedimientos conocidos por los especialistas en la materia incluyendo, pero sin limitación, encapsulación en liposomas, iontoforesis o mediante incorporación a otros vehículos tales como polímeros biodegradables, hidrogeles, ciclodextrinas (véanse, p.ej., González *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 10: 1068-1074 (1999); Wang *et al.*, publicaciones internacionales PCT n° WO 03/47518 y WO 03/46185), microesferas de poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y PLGA (véanse por ejemplo la patente de EE.UU. n° 6.447.796 y la solicitud de publicación de EE.UU. n° 2002130430), nanocápsulas biodegradables y microesferas bioadhesivas, o mediante vectores proteicos (O'Hare y Normand, publicación internacional PCT n° WO 00/53722). Como alternativa, la combinación de ácido nucleico/vehículo se suministra localmente por inyección directa o

mediante el uso de una bomba de infusión. La inyección directa de las moléculas de ácido nucleico de la divulgación, tanto subcutánea, intramuscular como intradérmica, puede tener lugar usando metodologías de aguja y jeringa estándares, o mediante tecnologías sin aguja tales como aquellas descritas en Conry *et al.*, Clin. Cancer Res., 5: 2330-2337 (1999) y Barry *et al.*, publicación internacional PCT n° WO 99/31262. Las moléculas de la presente divulgación pueden usarse como agentes farmacéuticos. Los agentes farmacéuticos previenen o modulan la aparición de o tratan (alivian un síntoma en cierto grado, preferiblemente todos los síntomas) un estado patológico en un sujeto.

Las moléculas de ácido nucleico pueden complejarse con lípidos catiónicos, empaquetarse en liposomas o suministrarse a células o tejidos diana. El ácido nucleico o complejos de ácido nucleico pueden administrarse localmente a tejidos relevantes *ex vivo* o *in vivo* mediante aplicación dérmica directa, aplicación transdérmica o inyección, con o sin su incorporación a biopolímeros. Las moléculas de ácido nucleico de la divulgación pueden incluir secuencias mostradas en las Tablas I. Los ejemplos de dichas moléculas de ácido nucleico consisten esencialmente en las secuencias proporcionadas en la Tabla I.

Los sistemas de suministro incluyen liposomas modificados en superficie que contienen lípidos con polietilenglicol (liposomas modificados con PEG o de larga circulación o liposomas ocultos). Estas formulaciones ofrecen un procedimiento para aumentar la acumulación de fármacos en tejidos diana. Esta clase de portadores de fármacos resiste la opsonización y eliminación por el sistema fagocítico mononuclear (SFM o SRE), posibilitando así tiempos de circulación sanguínea más largos y una exposición en tejido potenciada para el fármaco encapsulado (Lasic *et al.* Chem. Rev. 1995, 95, 2601-2627; Ishiwata *et al.*, Chem. Pharm. Bull. 1995, 43, 1005-1011).

Las moléculas de ácido nucleico pueden formularse o complejarse con polietilenimina (p.ej., PEI lineal o ramificada) y/o derivados de polietilenimina, incluyendo por ejemplo derivados de polietilenimina-polietilenglicol-*N*-acetilgalactosamina (PEI-PEG-GAL) o polietilenimina-polietilenglicol-tri-*N*-acetilgalactosamina (PEI-PEG-triGAL), PEI injertadas tales como PEI de galactosa, PEI de colesterol, PEI derivatizada de anticuerpo y PEI de polietilenglicol (PEG-PEI) y derivados de las mismas (véanse, por ejemplo, Ogris *et al.*, 2001, AAPA PharmSci., 3, 1-11; Furgeson *et al.*, 2003, Bioconjugate Chem., 14, 840-847; Kunath *et al.*, 2002, Pharmaceutical Research, 19, 810-817; Choi *et al.*, 2001, Bull. Korean Chem. Soc., 22, 46-52; Bettinger *et al.*, 1999, Bioconjugate Chem., 10, 558-561; Peterson *et al.*, 2002, Bioconjugate Chem., 13, 845-854; Erbacher *et al.*, 1999, Journal of Gene Medicine Preprint, 1, 1-18; Godbey *et al.*, 1999, PNAS USA, 96, 5177-5181; Godbey *et al.*, 1999, Journal of Controlled Release, 60, 149-160; Diebold *et al.*, 1999, Journal of Biological Chemistry, 274, 19087-19094; Thomas y Klibanov, 2002, PNAS USA, 99, 14640-14645; Sagara, patente de EE.UU. n° 6.586.524 y publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 20030077829.

Las moléculas de ácido nucleico pueden complejarse con agentes disruptores de membrana tales como aquellos descritos en la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 20010007666. El agente o agentes disruptores de membrana y la molécula de ácido nucleico pueden estar también complejados con un lípido catiónico o molécula lipídica auxiliar tal como aquellos lípidos descritos en la patente de EE.UU. n° 6.235.310.

Las moléculas de ácido nucleico pueden administrarse mediante suministro pulmonar, tal como mediante inhalación de un aerosol o formulación secada por pulverización administrada por un dispositivo de inhalación o nebulizador, proporcionando una captación local rápida de las moléculas de ácido nucleico en tejidos pulmonares relevantes. Pueden prepararse composiciones particuladas sólidas que contienen partículas secas respirables de composiciones de ácido nucleico micronizadas moliendo composiciones de ácido nucleico secadas o liofilizadas y pasando entonces la composición micronizada, por ejemplo, a través de un tamiz de malla 400 para disgregar o separar los aglomerados grandes. Una composición particulada sólida que comprende las composiciones de ácido nucleico de la divulgación puede contener opcionalmente un dispersante que sirve para facilitar la formación de un aerosol, así como otros compuestos terapéuticos. Es un dispersante adecuado la lactosa, que puede combinarse con el compuesto de ácido nucleico a cualquier relación adecuada, tal como una relación 1 a 1 en peso.

Los aerosoles de partículas líquidas pueden incluir moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria y pueden producirse mediante cualquier medio adecuado, tal como con un nebulizador (véase, p.ej., la patente de EE.UU. n° 4.501.729). Los nebulizadores son dispositivos comercialmente disponibles que transforman soluciones o suspensiones de un ingrediente activo en una niebla de aerosol terapéutica mediante la aceleración de un gas comprimido, típicamente aire u oxígeno, a través de un orificio de Venturi estrecho o mediante agitación ultrasónica. Las formulaciones adecuadas para uso en nebulizadores incluyen el ingrediente activo en un portador líquido en una cantidad de hasta un 40 % p/p, preferiblemente menos de un 20 % p/p de la formulación. El portador es típicamente agua o una solución alcohólica acuosa diluida, preferiblemente convertida en isotónica con los fluidos corporales mediante la adición, p.ej., de cloruro de sodio u otras sales adecuadas. Los aditivos opcionales incluyen conservantes si la formulación no se prepara estéril, p.ej., hidroxibenzoato de metilo, antioxidantes, aromatizantes, aceites volátiles, agentes de tamponación y emulsionantes y otros tensioactivos de formulación. Pueden producirse igualmente aerosoles de partículas sólidas que incluyen la composición activa y tensioactivo con cualquier generador de aerosol particulado sólido. Los generadores de aerosol para administración de productos terapéuticos particulados sólidos a un sujeto producen partículas que son respirables, como se explica anteriormente, y generan un volumen de aerosol que contiene una dosis medida predeterminada de una composición terapéutica a una tasa

adecuada para administración humana. Es un tipo ilustrativo de generador de aerosol particulado sólido un insuflador. Las formulaciones adecuadas para administración por insuflación incluyen polvos finamente triturados que pueden suministrarse mediante un insuflador. En el insuflador, el polvo, p.ej., una dosis medida del mismo eficaz para llevar a cabo los tratamientos descritos en la presente memoria, está contenido en cápsulas o cartuchos, compuestos típicamente por gelatina o plástico, que se perforan o abren *in situ* y se suministra el polvo por aire extraído del dispositivo por inhalación o mediante una bomba accionada manualmente. El polvo empleado en el insuflador consiste únicamente en el ingrediente activo o en una combinación en polvo que comprende el ingrediente activo, un diluyente en polvo adecuado tal como lactosa y un tensioactivo opcional. El ingrediente activo incluye típicamente de 0,1 a 100 p/p de la formulación. Un segundo tipo de generador de aerosol ilustrativo incluye un inhalador de dosis medida. Los inhaladores de dosis medida son dispensadores de aerosol a presión que contienen típicamente una formulación en suspensión o solución del ingrediente activo en un propelente licuado. Durante el uso, estos dispositivos descargan la formulación a través de una válvula adaptada para suministrar un volumen medido, produciendo una pulverización de partículas finas que contienen el ingrediente activo. Los propelentes adecuados incluyen ciertos compuestos de clorofluorocarbono, p.ej., diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano y mezclas de los mismos. La formulación puede contener adicionalmente uno o más codisolventes, por ejemplo, etanol, emulsionantes y otros tensioactivos de formulación tales como ácido oleico o trioleato de sorbitán, antioxidantes y agentes aromatizantes adecuados. Se describen otros procedimientos para suministro pulmonar, p.ej., en la solicitud de patente de EE.UU. n.º 20040037780 y las patentes de EE.UU. n.º 6.592.904, 6.582.728, 6.565.885. La publicación de patente PCT n.º WO2008/132723 se refiere al suministro en aerosol de oligonucleótidos en general, y de ARN*ic* en particular, al sistema respiratorio.

Las moléculas de ácido nucleico pueden administrarse al sistema nervioso central (SNC) o sistema nervioso periférico (SNP). Los experimentos han demostrado la captación *in vivo* eficaz de ácidos nucleicos por neuronas. Véanse, p.ej., Sommer *et al.*, 1998, Antisense Nuc. Acid Drug Dev., 8, 75; Epa *et al.*, 2000, Antisense Nuc. Acid Drug Dev., 10, 469; Broadus *et al.*, 1998, J. Neurosurg., 88(4), 734; Karle *et al.*, 1997, Eur. J. Pharmacol., 340 (2/3), 153; Bannai *et al.*, 1998, Brain Research, 784 (1,2), 304; Rajakumar *et al.*, 1997, Synapse, 26(3), 199; Wu-pong *et al.*, 1999, BioPharm, 12 (1), 32; Bannai *et al.*, 1998, Brain Res. Protoc., 3(1), 83 y Simantov *et al.*, 1996, Neuroscience, 74 (1), 39. Las moléculas de ácido nucleico son por lo tanto susceptibles de suministro a y captación por células del SNC y/o SNP.

Se proporciona el suministro de moléculas de ácido nucleico al SNC mediante una variedad de diferentes estrategias. Los enfoques tradicionales de suministro al SNC que pueden usarse incluyen, pero sin limitación, administración intratecal y intracerebroventricular, implantación de catéteres y bombas, inyección directa o perfusión en el sitio de herida o lesión, inyección en el sistema arterial cerebral o mediante apertura química u osmótica de la barrera hematoencefálica. Otros enfoques pueden incluir el uso de diversos sistemas de transporte y portadores, por ejemplo mediante el uso de conjugados y polímeros biodegradables. Además, pueden usarse enfoques de terapia génica, p.ej., como se describen en Kaplitt *et al.*, patente de EE.UU. n.º 6.180.613 y Davidson, documento WO 04/013280, para expresar moléculas de ácido nucleico en el SNC.

Los sistemas de suministro pueden incluir, por ejemplo, geles acuosos y no acuosos, cremas, emulsiones múltiples, microemulsiones, liposomas, pomadas, soluciones acuosas y no acuosas, lociones, aerosoles, bases y polvos hidrocarbonados, y pueden contener excipientes tales como solubilizantes, potenciadores de la permeación (p.ej., ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, alcoholes grasos y aminoácidos) y polímeros hidrófilos (p.ej., policarbofilo y polivinilpirrolidona). En una realización, el portador farmacéuticamente aceptable es un liposoma o un potenciador transdérmico. Los ejemplos de liposomas que pueden usarse en esta divulgación incluyen los siguientes: (1) CellFectin, formulación 1:1,5 (M/M) de liposoma del lípido catiónico N,N,N,N-tetrametil-N,N,N,N-tetrapalmitilpermina y dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE) (GIBCO BRL); (2) Cytofectin GSV, formulación 2:1 (M/M) de liposoma de un lípido catiónico y DOPE (Glen Research); (3) DOTAP (metilsulfato de N-[1-(2,3-dioleiloxi)-N,N,N-trimetilamonio] (Boehringer Mannheim) y (4) Lipofectamine, formulación 3:1 (M/M) de liposoma del lípido policatiónico DOSPA, el lípido neutro DOPE (GIBCO BRL) y aminoácido dialquilado (DiLA2).

Los sistemas de suministro pueden incluir parches, comprimidos, supositorios, pesarios, geles y cremas, y pueden contener excipientes tales como solubilizantes y potenciadores (p.ej., propilenglicol, sales biliares y aminoácidos) y otros vehículos (p.ej., polietilenglicol, ésteres de ácido graso y polímeros hidrófilos tales como hidroxipropilmetilcelulosa y ácido hialurónico).

Las moléculas de ácido nucleico pueden formularse o complejarse con polietilenimina (p.ej., PEI lineal o ramificada) y/o derivados de polietilenimina, incluyendo por ejemplo PEI injertadas tales como PEI de galactosa, PEI de colesterol, PEI derivatizada de anticuerpo y PEI de polietilenglicol (PEG-PEI) y derivados de las mismas (véanse, por ejemplo, Ogris *et al.*, 2001, AAPA PharmSci., 3, 1-11; Furgeson *et al.*, 2003, Bioconjugate Chem., 14, 840-847; Kunath *et al.*, 2002, Pharmaceutical Research, 19, 810-817; Choi *et al.*, 2001, Bull. Korean Chem. Soc., 22, 46-52; Bettinger *et al.*, 1999, Bioconjugate Chem., 10, 558-561; Peterson *et al.*, 2002, Bioconjugate Chem., 13, 845-854; Erbacher *et al.*, 1999, Journal of Gene Medicine Preprint, 1, 1-18; Godbey *et al.*, 1999, PNAS USA, 96, 5177-5181; Godbey *et al.*, 1999, Journal of Controlled Release, 60, 149-160; Diebold *et al.*, 1999, Journal of Biological Chemistry, 274, 19087-19094; Thomas y Klibanov, 2002, PNAS USA, 99, 14640-14645 y Sagara, patente de EE.UU. n.º 6.586.524.

Las moléculas de ácido nucleico pueden incluir un bioconjugado, por ejemplo un conjugado de ácido nucleico como se describe en Vargeese *et al.*, nº de serie de EE.UU. 10/427.160; patente de EE.UU. nº 6.528.631; patente de EE.UU. nº 6.335.434; patente de EE.UU. nº 6.235.886; patente de EE.UU. nº 6.153.737; patente de EE.UU. nº 5.214.136 y patente de EE.UU. nº 5.138.045.

Las composiciones, procedimientos y kits dados a conocer en la presente memoria pueden incluir un vector de expresión que incluye una secuencia de ácido nucleico que codifica al menos una molécula de ácido nucleico de la divulgación de manera que permita la expresión de la molécula de ácido nucleico. Los procedimientos de introducción de moléculas de ácido nucleico o uno o más vectores capaces de expresar las hebras de ADNbc en el entorno de una célula dependerán del tipo de célula y la composición de su entorno. La molécula de ácido nucleico o el constructo de vector pueden introducirse directamente en la célula (concretamente de forma intracelular) o introducirse extracelularmente en una cavidad, espacio intersticial, en la circulación de un organismo, introducirse por vía oral o pueden introducirse bañando un organismo o célula con una solución que contiene ARNbc. La célula es preferiblemente una célula de mamífero, más preferiblemente una célula humana. La molécula de ácido nucleico del vector de expresión puede incluir una región codificante y una región anticodificante. La región anticodificante puede incluir una secuencia complementaria de una secuencia de ARN o ADN que codifica hsp47 y la región codificante puede incluir una secuencia complementaria de la región anticodificante. La molécula de ácido nucleico puede incluir dos hebras distintas que tienen regiones codificantes y anticodificantes complementarias. La molécula de ácido nucleico puede incluir una sola hebra que tiene regiones codificantes y anticodificantes complementarias.

Las moléculas de ácido nucleico que interaccionan con moléculas de ARN diana y regulan negativamente moléculas de ARN que codifican genes (p.ej., las moléculas de ARN diana a las que se hace referencia con números de acceso a Genbank en la presente memoria) pueden expresarse a partir de unidades de transcripción insertadas en vectores de ADN o ARN. Los vectores recombinantes pueden ser plásmidos de ADN o vectores víricos. Los vectores víricos que expresan una molécula de ácido nucleico pueden construirse basándose en, pero sin limitación, virus adenoasociados, retrovirus, adenovirus o alfavirus. Los vectores recombinantes capaces de expresar las moléculas de ácido nucleico pueden suministrarse como se describe en la presente memoria y persistir en las células diana. Como alternativa, pueden usarse vectores víricos que proporcionan la expresión transitoria de moléculas de ácido nucleico. Dichos vectores pueden administrarse repetidamente según sea necesario. Una vez expresadas, las moléculas de ácido nucleico se unen a y regulan negativamente la función o expresión génica a través de interferencia de ARN (iARN). El suministro de vectores que expresan una molécula de ácido nucleico puede ser sistémico, tal como mediante administración intravenosa o intramuscular, mediante administración de células diana extraídas de un sujeto seguido de reintroducción al sujeto o mediante cualquier otro medio que permita la introducción en la célula diana deseada.

Los vectores de expresión pueden incluir una secuencia de ácido nucleico que codifica al menos una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria de manera que permita la expresión de la molécula de ácido nucleico. Por ejemplo, el vector puede contener una secuencia o secuencias que codifican ambas hebras de una molécula de ácido nucleico que incluye un dúplex. El vector puede contener también una secuencia o secuencias que codifican una sola molécula de ácido nucleico que es autocomplementaria y por tanto forma una molécula de ácido nucleico. Se describen ejemplos no limitantes de dichos vectores de expresión en Paul *et al.*, 2002, *Nature Biotechnology*, 19, 505; Miyagishi y Taira, 2002, *Nature Biotechnology*, 19, 497; Lee *et al.*, 2002, *Nature Biotechnology*, 19, 500 y Novina *et al.*, 2002, *Nature Medicine*, publicación en línea avanzada doi: 10.1038/nm725. Los vectores de expresión pueden incluirse también en una célula de mamífero (p.ej., humana).

Un vector de expresión puede incluir una secuencia de ácido nucleico que codifica dos o más moléculas de ácido nucleico, que pueden ser iguales o diferentes. Los vectores de expresión pueden incluir una secuencia de una molécula de ácido nucleico complementaria de una molécula de ácido nucleico a la que se hace referencia en el número de acceso a Genbank NM_001235, por ejemplo aquellas mostradas en la Tabla I.

Un vector de expresión puede codificar una o ambas hebras de un dúplex de ácido nucleico, o una sola hebra autocomplementaria que autohibrida en un dúplex de ácido nucleico. Las secuencias de ácido nucleico que codifican moléculas de ácido nucleico pueden ligarse operativamente de manera que permita la expresión de la molécula de ácido nucleico (véanse, por ejemplo, Paul *et al.*, 2002, *Nature Biotechnology*, 19, 505; Miyagishi y Taira, 2002, *Nature Biotechnology*, 19, 497; Lee *et al.*, 2002, *Nature Biotechnology*, 19, 500 y Novina *et al.*, 2002, *Nature Medicine*, publicación en línea avanzada doi: 10.1038/nm725).

Un vector de expresión puede incluir una más de las siguientes: a) una región de inicio de la transcripción (p.ej., región de inicio eucariótica pol I, II o III); b) una región de terminación de la transcripción (p.ej., región de terminación eucariótica pol I, II o III); c) un intrón y d) una secuencia de ácido nucleico que codifica al menos una de las moléculas de ácido nucleico; en la que dicha secuencia está ligada operativamente con la región de inicio y la región de terminación de manera que se permita la expresión y/o suministro de la molécula de ácido nucleico. El vector puede incluir opcionalmente un marco abierto de lectura (ORF) de una proteína ligada operativamente por el lado 5' o el lado 3' de la secuencia que codifica la molécula de ácido nucleico y/o un intrón (secuencias intermedias).

La transcripción de las secuencias de molécula de ácido nucleico puede impulsarse por un promotor de ARN polimerasa I (pol I), ARN polimerasa II (pol II) o ARN polimerasa III (pol III) eucariótico. Los transcritos de promotores pol II o pol III se expresan a altos niveles en todas las células; los niveles de un promotor pol II dado en un tipo celular dado dependen de la naturaleza de las regiones reguladoras génicas (potenciadores, silenciadores, etc.) presentes cercanos. Se usan también promotores de ARN polimerasa procarióticos, a condición de que la enzima ARN polimerasa procariótica se exprese en células apropiadas (Elroy-Stein y Moss, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 6743-7; Gao y Huang 1993, Nucleic Acids Res., 21, 2867-72; Lieber *et al.*, 1993, Methods Enzymol., 217, 47-66; Zhou *et al.*, 1990, Mol. Cell. Biol., 10, 4529-37). Varios investigadores han demostrado que las moléculas de ácido nucleico expresadas a partir de dichos promotores pueden funcionar en células de mamífero (p.ej. Kashani-Sabet *et al.*, 1992, Antisense Res. Dev., 2, 3-15; Ojwang *et al.*, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 10802-6; Chen *et al.*, 1992, Nucleic Acids Res., 20, 4581-9; Yu *et al.*, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 6340-4; L'Huillier *et al.*, 1992, EMBO J., 11, 4411-8; Lisiewicz *et al.*, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 90, 8000-4; Thompson *et al.*, 1995, Nucleic Acids Res., 23, 2259; Sullenger y Cech, 1993, Science, 262, 1566). Más específicamente, las unidades de transcripción, tales como aquellas derivadas de genes que codifican ARN nuclear pequeño U6 (ARNnp), ARN de transferencia (ARNt) y ARN AV de adenovirus, son útiles en la generación de altas concentraciones de las moléculas de ARN deseadas tales como ANic en células (Thompson *et al.*, anteriormente; Couture y Stinchcomb, 1996, anteriormente; Noonberg *et al.*, 1994, Nucleic Acid Res., 22, 2830; Noonberg *et al.*, patente de EE.UU. n° 5.624.803; Good *et al.*, 1997, Gene Ther., 4, 45; Beigelman *et al.*, publicación internacional PCT n° WO 96/18736. Las unidades de transcripción de ácido nucleico anteriores pueden incorporarse a una variedad de vectores para la introducción en células de mamífero incluyendo, pero sin limitación, vectores de ADN de plásmido, vectores de ADN vírico (tales como vectores adenovíricos o víricos adenoasociados) o vectores de ARN vírico (tales como vectores retrovíricos o alfavíricos) (véase Couture y Stinchcomb, 1996 anteriormente).

La molécula de ácido nucleico puede expresarse en células a partir de promotores eucarióticos (p.ej., Izant y Weintraub, 1985, Science, 229, 345; McGarry y Lindquist, 1986, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 83, 399; Scanlon *et al.*, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 10591-5; Kashani-Sabet *et al.*, 1992, Antisense Res. Dev., 2, 3-15; Dropulic *et al.*, 1992, J. Virol., 66, 1432-41; Weerasinghe *et al.*, 1991, J. Virol., 65, 5531-4; Ojwang *et al.*, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 10802-6; Chen *et al.*, 1992, Nucleic Acids Res., 20, 4581-9; Sarver *et al.*, 1990 Science, 247, 1222-1225; Thompson *et al.*, 1995, Nucleic Acids Res., 23, 2259; Good *et al.*, 1997, Gene Therapy, 4, 45. Los especialistas en la materia se darán cuenta de que puede expresarse cualquier ácido nucleico en células eucarióticas a partir del vector de ADN/ARN apropiado. La actividad de dichos ácidos nucleicos puede aumentarse mediante su liberación desde el transcrito primario por un ácido nucleico enzimático (Draper *et al.*, documento PCT WO 93/23569 y Sullivan *et al.*, documento PCT WO 94/02595; Ohkawa *et al.*, 1992, Nucleic Acids Symp. Ser., 27, 15-6; Taira *et al.*, 1991, Nucleic Acids Res., 19, 5125-30; Ventura *et al.*, 1993, Nucleic Acids Res., 21, 3249-55; Chowrira *et al.*, 1994, J. Biol. Chem., 269, 25856).

Un constructo vírico empaquetado en una partícula vírica conseguiría tanto una introducción eficaz de un constructo de expresión en la célula como la transcripción del ARNbc codificado por el constructo de expresión.

Los procedimientos para introducción oral incluyen el mezclado directo de ARN con alimento del organismo, así como enfoques genomanipulados en que una especie que se usa como alimento se genomanipula para expresar un ARN y se alimenta entonces al organismo para afectar. Pueden emplearse procedimientos físicos para introducir una solución de molécula de ácido nucleico en la célula. Los procedimientos físicos de introducción de ácidos nucleicos incluyen la inyección de una solución que contiene la molécula de ácido nucleico, el bombardeo por partículas recubiertas con la molécula de ácido nucleico, el empapado de la célula u organismo en una solución de ARN o la electroporación de membranas celulares en presencia de la molécula de ácido nucleico.

Pueden usarse otros procedimientos conocidos en la materia para introducir ácidos nucleicos en células, tales como transporte por portador mediado por lípido, transporte mediado por producto químico tal como fosfato de calcio y similares. Por tanto, las moléculas de ácido nucleico pueden introducirse junto con componentes que efectúan una o más de las siguientes actividades: potenciar la captación de ARN por la célula, promover la reasociación de las hebras de dúplex, estabilizar las hebras reasociadas o aumentar de otro modo la inhibición del gen diana.

Las moléculas de ácido nucleico o el constructo de vector pueden introducirse en la célula usando formulaciones adecuadas. Es una formulación preferible con una formación lipídica tal como en Lipofectamine™ 2000 (Invitrogen, CA, EE.UU.) y liposomas acoplados a vitamina A (Sato *et al.* Nat. Biotechnol. 2008; 26: 431-442, publicación de patente PCT n° WO 2006/068232). Las formulaciones lipídicas pueden administrarse también a animales tal como por inyección intravenosa, intramuscular o intraperitoneal, o por vía oral o por inhalación u otros procedimientos como son conocidos en la materia. Cuando la formulación es adecuada para administración a animales tales como mamíferos, y más específicamente seres humanos, la formulación es también farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones farmacéuticamente aceptables para administrar oligonucleótidos son conocidas y pueden usarse. En algunos casos, puede ser preferible formular el ARNbc en un tampón o solución salina e inyectar directamente el ARNbc formulado en células, como en estudios con ovocitos. Puede realizarse también la inyección directa de dúplex de ARNbc. Para procedimientos adecuados de introducción de ARNbc, véase la publicación de patente publicada de EE.UU. n° 2004/0203145, 20070265220.

Las nanocápsulas o microcápsulas poliméricas facilitan el transporte y liberación del ARNbc encapsulado o unido a la célula. Incluyen materiales poliméricos y monoméricos, incluyendo especialmente poli(cianoacrilato de butilo). Se ha publicado un resumen de los materiales y procedimientos de fabricación (véase Kreuter, 1991). Los materiales poliméricos que se forman a partir de precursores monoméricos y/u oligoméricos en la etapa de polimerización/generación de nanopartículas son conocidos por sí mismos en la técnica anterior, así como los pesos moleculares y distribución de peso molecular del material polimérico que un especialista en el campo de fabricación de nanopartículas puede seleccionar adecuadamente de acuerdo con las habilidades habituales.

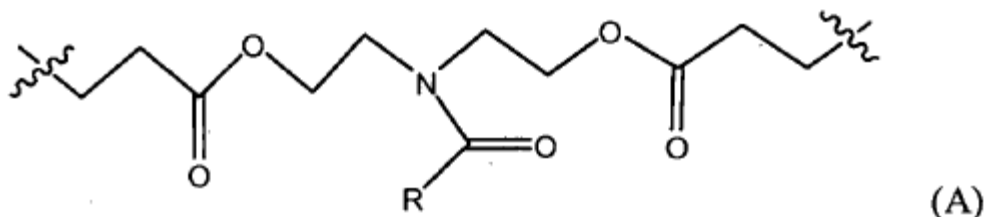
Las moléculas de ácido nucleico pueden formularse como una microemulsión. Una microemulsión es un sistema de agua, aceite y anfífilo que es una única solución líquida ópticamente isotrópica y termodinámicamente estable. Típicamente, las microemulsiones se preparan dispersando en primer lugar un aceite en una solución tensioactiva acuosa y añadiendo entonces suficiente cantidad de un 4º componente, generalmente un alcohol de cadena larga, formando un sistema transparente.

Los tensioactivos que pueden usarse en la preparación de microemulsiones incluyen, pero sin limitación, tensioactivos iónicos, tensioactivos no iónicos, Brij 96, polioxietilenoleiléteres, ésteres de ácido graso de poliglicerol, monolaurato de tetraglicerol (ML310), monooleato de tetraglicerol (MO310), monooleato de hexaglicerol (PO310), pentaoleato de hexaglicerol (PO500), monocaprato de decaglicerol (MCA750), monooleato de decaglicerol (MO750), sesquioleato de decaglicerol (SO750) y decaoleato de decaglicerol (DA0750), solos o en combinación con cotensioactivos. El cotensioactivo, habitualmente un alcohol de cadena corta tal como etanol, 1-propanol y 1-butanol, sirve para aumentar la fluidez interfásica al penetrar en la película tensioactiva y crear por consiguiente una película desordenada debido al espacio vacío generado entre las moléculas tensioactivas.

Polímeros reticulados hidrosolubles

Las formulaciones de suministro pueden incluir polímeros reticulados degradables hidrosolubles que incluyen uno o más restos lipídicos reticulables degradables uno o más restos de PEI y/o uno o más mPEG (derivado de metiléter de PEG (metoxipoli(etilenglicol))).

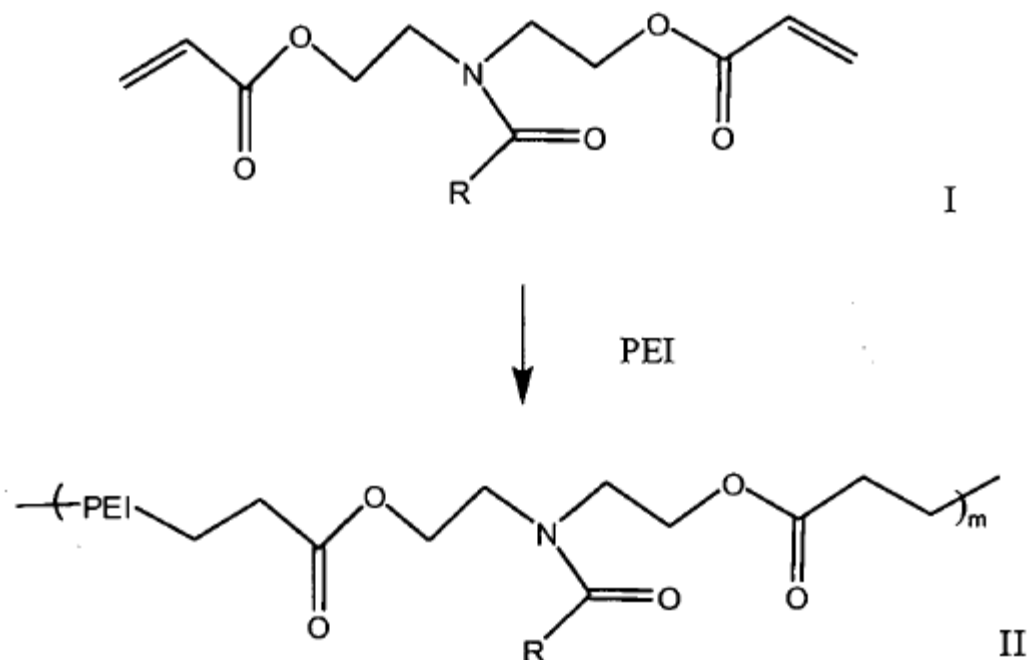
Los restos lipídicos degradables incluyen preferiblemente compuestos que tienen el siguiente motivo estructural:



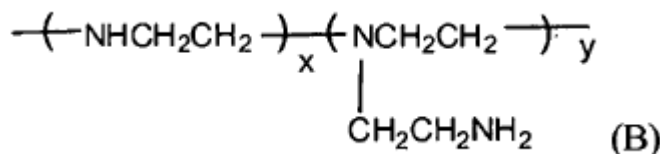
En la fórmula anterior, los ligamientos éster son grupos biodegradables, R representa un grupo "lipoico" relativamente hidrófobo y el motivo estructural mostrado aparece m veces, en que m está en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 30. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R se selecciona del grupo consistente en alquilo C₂-C₅₀, heteroalquilo C₂-C₅₀, alqueno C₂-C₅₀, heteroalqueno C₂-C₅₀, arilo C₅-C₅₀; heteroarilo C₂-C₅₀; alquino C₂-C₅₀, heteroalquino C₂-C₅₀, carboxialqueno C₂-C₅₀ y carboxiheteroalqueno C₂-C₅₀. En realizaciones preferidas, R es un alquilo saturado o insaturado que tiene de 4 a 30 carbonos, más preferiblemente de 8 a 24 carbonos o un esteroide, preferiblemente un resto de colesterol. En realizaciones preferidas, R es oleico, mirístico, palmítico, margárico, esteárico, araquídico, behénico o lignocérico. En la realización más preferida, R es oleico.

El N en la fórmula (B) puede tener un par de electrones o un enlace con un átomo de hidrógeno. Cuando N tiene un par de electrones, la unidad repetida puede ser catiónica a pH bajo.

El resto lipídico reticulable degradable puede reaccionar con una polietilenimina (PEI) como se muestra en el Esquema A siguiente:

Esquema A

En la fórmula (A), R tiene los mismos significados que se describen anteriormente. La PEI puede contener unidades repetidas de fórmula (B), en que x es un entero en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 y y es un entero en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 100.



La reacción ilustrada en el Esquema A puede llevarse a cabo entremezclando la PEI y el diacrilato (I) en un disolvente mutuo tal como etanol, metanol o diclorometano con agitación, preferiblemente a temperatura ambiente durante varias horas, y evaporando entonces el disolvente para recuperar el polímero resultante. Aún sin desear ligarse a teoría particular alguna, se cree que la reacción entre PEI y diacrilato (I) implica una reacción de Michael entre una o más aminas de la PEI con el doble o dobles enlaces del diacrilato (véase J. March, "Advanced Organic Chemistry" 3ª Ed, pág. 711-712 (1985)). El diacrilato mostrado en el Esquema A puede prepararse de la manera descrita en la solicitud de EE.UU. nº de serie 11/216.986 (publicación de EE.UU. nº 2006/0258751).

El peso molecular de la PEI está preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 200 a 25.000 Da, más preferiblemente de 400 a 5.000 Da, aún más preferiblemente de 600 a 2.000 Da. La PEI puede ser ramificada o lineal.

La relación molar de PEI a diacrilato está preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1:20. El peso molecular medio ponderado del lipopolímero catiónico puede estar en el intervalo de aproximadamente 500 Da a aproximadamente 1.000.000 Da, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 2.000 Da a aproximadamente 200.000 Da. Los pesos moleculares pueden determinarse por cromatografía de exclusión por tamaño usando patrones de PEG o por electroforesis en gel de agarosa.

El lipopolímero catiónico es preferiblemente degradable, más preferiblemente biodegradable, p.ej., degradable mediante un mecanismo seleccionado del grupo constituido por hidrólisis, escisión enzimática, reducción, fotoescisión y sonicación. Aún sin desear ligarse a teoría particular alguna, se cree que la degradación del lipopolímero catiónico de fórmula (II) en la célula procede por escisión enzimática y/o hidrólisis de los ligamientos éster.

La síntesis puede llevarse a cabo haciendo reaccionar el resto lipídico degradable con el resto de PEI como se describe anteriormente. Entonces, se añade el mPEG (derivado de metiléter de PEG (metoxipoli(etilenglicol))), formando el polímero reticulado degradable. En realizaciones preferidas, se lleva a cabo la reacción a temperatura ambiente. Los productos de reacción pueden aislarse por cualquier medio conocido en la materia, incluyendo técnicas cromatográficas. En una realización preferida, el producto de reacción puede retirarse mediante precipitación seguida de centrifugación.

Dosificaciones

La dosificación útil para administrar y el modo particular de administración variarán dependiendo de factores tales como el tipo celular, o para uso *in vivo*, la edad, peso y animal y región particular del mismo para tratar, el ácido nucleico y procedimiento de suministro particular usados, el uso terapéutico o de diagnóstico contemplado y la forma de la formulación, por ejemplo suspensión, emulsión, micela o liposoma, como resultará claramente evidente para los especialistas en la materia. Típicamente, la dosificación se administra a niveles menores y se aumenta hasta alcanzar el efecto deseado.

Cuando se usan lípidos para suministrar el ácido nucleico, la cantidad de compuesto lipídico que se administra puede variar y depende generalmente de la cantidad de ácido nucleico que se esté administrando. Por ejemplo, la relación en peso de compuesto lipídico a ácido nucleico es preferiblemente de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 30:1, siendo más preferida una relación en peso de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 10:1.

Una unidad de dosificación adecuada de moléculas de ácido nucleico puede estar en el intervalo de 0,001 a 0,25 mg por kg de peso corporal del receptor al día, o en el intervalo de 0,01 a 20 µg por kg de peso corporal al día, o en el intervalo de 0,01 a 10 µg o kg de peso corporal al día, o en el intervalo de 0,10 a 5 µg por kg de peso corporal al día o en el intervalo de 0,1 a 2,5 µg por g de peso corporal al día.

Pueden introducirse cantidades adecuadas de moléculas de ácido nucleico, y estas cantidades pueden determinarse empíricamente usando procedimientos estándares. Las concentraciones eficaces de especies de molécula de ácido nucleico individuales en el entorno de una célula pueden ser de aproximadamente 1 fM, aproximadamente 50 fM, 100 fM, 1 pM, 1,5 pM, 2,5 pM, 5 pM, 10 pM, 25 pM, 50 pM, 100 pM, 500 pM, 1 nM, 2,5 nM, 5 nM, 10 nM, 25 nM, 50 nM, 100 nM, 500 nM, 1 µM, 2,5 µM, 5 µM, 10 µM, 100 µM o más.

La dosificación puede ser de 0,01 µg a 1 g por kg de peso corporal (p.ej., 0,1 µg, 0,25 µg, 0,5 µg, 0,75 µg, 1 µg, 2,5 µg, 5 µg, 10 µg, 25 µg, 50 µg, 100 µg, 250 µg, 500 µg, 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 250 mg o 500 mg por kg).

Los niveles de dosificación del orden de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 140 mg por kilogramo de peso corporal al día son útiles en el tratamiento de las afecciones anteriormente indicadas (de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 7 g por sujeto al día). La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con los materiales portadores para producir una única forma de dosificación varía dependiendo del hospedador tratado y del modo de administración particular. Las formas unitarias de dosificación contienen generalmente entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 500 mg de ingrediente activo.

Se entiende que el nivel de dosis específico para cualquier sujeto particular depende de una variedad de factores, incluyendo actividad del compuesto específico empleado, edad, peso corporal, estado de salud general, sexo, dieta, momento de administración, vía de administración y tasa de excreción, combinación de fármacos y gravedad de la enfermedad particular que experimenta terapia.

Las composiciones farmacéuticas que incluyen la molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria pueden administrarse una vez al día, qid, tid, bid, QD, o en cualquier intervalo y durante cualquier periodo que sea médicamente apropiado. Sin embargo, el agente terapéutico puede dosificarse también en unidades de dosificación que contienen 2, 3, 4, 5, 6 o más subdosis administradas a intervalos apropiados a lo largo del día. En ese caso, las moléculas de ácido nucleico contenidas en cada subdosis pueden ser correspondientemente menores para conseguir la unidad de dosificación diaria total. La unidad de dosificación puede estar compuesta también por una única dosis durante varios días, p.ej., usando una formulación de liberación mantenida convencional que proporciona una liberación mantenida y consistente del ARNbc durante un periodo de varios días. Las formulaciones de liberación mantenida son bien conocidas en la materia. La unidad de dosificación puede contener el correspondiente múltiplo de la dosis diaria. La composición puede estar compuesta de tal modo que la suma de las múltiples unidades de ácido nucleico juntas contenga una dosis suficiente.

Composiciones, kits y envases farmacéuticos

Se proporcionan también composiciones, kits, envases y formulaciones que incluyen una molécula de ácido nucleico (p.ej., una molécula de ANic) como se proporciona en la presente memoria para reducir la expresión de hsp47 para administrar la molécula de ácido nucleico a o distribuir en un paciente. Un kit puede incluir al menos un envase y al menos una etiqueta. Los envases adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringuillas y tubos de ensayo. Los envases pueden estar formados por una variedad de materiales tales como vidrio, metal o plástico. El envase puede contener una secuencia o secuencias aminoacídicas, una molécula o moléculas pequeñas, una secuencia o secuencias de ácido nucleico, una población o poblaciones celulares y/o un anticuerpo o anticuerpos. En una realización, el envase contiene un polinucleótido para uso en el examen del perfil de expresión de ARNm de una célula, junto con reactivos usados con este fin. En otra realización, el envase incluye un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo o proteína de unión específica para uso en la evaluación de la expresión de proteína

hsp47 en células y tejidos, o con fines de laboratorio, de pronóstico, de diagnóstico, profilácticos y terapéuticos relevantes; pueden incluirse sobre o con dicho envase indicaciones y/o instrucciones para dichos usos, así como reactivos y otras composiciones o herramientas usados con estos fines. Los kits pueden incluir adicionalmente indicaciones y/o instrucciones; pueden incluirse también reactivos y otras composiciones o herramientas usados con dichos fines.

El envase puede contener como alternativa una composición que es eficaz para tratar, diagnosticar, pronosticar o tratar profilácticamente una afección y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el envase puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). Los agentes activos en la composición pueden ser una molécula de ácido nucleico capaz de unirse específicamente a hsp47 y/o de modular la función de hsp47.

Un kit puede incluir adicionalmente un segundo envase que incluye un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y/o solución de dextrosa. Puede incluir adicionalmente otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, cargas, agitadores, agujas, jeringuillas y/o prospectos con indicaciones y/o instrucciones de uso.

Las ampollas o envases multidosis de dosificación unitaria en que se empaquetan las moléculas de ácido nucleico antes del uso pueden incluir un envase sellado herméticamente que encierra una cantidad de polinucleótido o solución que contiene un polinucleótido adecuada para una dosis farmacéuticamente eficaz del mismo, o múltiplos de una dosis eficaz. El polinucleótido se empaqueta como una formulación estéril y el envase herméticamente sellado se diseña para conservar la esterilidad de la formulación hasta el uso.

El envase del polinucleótido que incluye una secuencia que codifica un elemento de respuesta inmunitaria celular o fragmento del mismo puede incluir un paquete que está etiquetado, y la etiqueta puede llevar un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental, por ejemplo la Dirección general de fármacos y alimentos, reflejando este aviso la aprobación por la agencia según las leyes federales de EE.UU. de la fabricación uso o venta del material polinucleotídico del mismo para administración humana.

Las leyes federales de EE.UU. requieren que el uso de composiciones farmacéuticas en la terapia de seres humanos esté aprobado por una agencia del gobierno federal. En los Estados Unidos, la ejecución es responsabilidad de la Dirección general de fármacos y alimentos, que expide las reglamentaciones apropiadas para asegurar dicha aprobación, detalladas en el título 21 del U.S.C. secciones 301-392. La reglamentación del material biológico, incluyendo productos compuestos por tejidos de animales, se regula por el título 42 del U.S.C. sección 262. Se requiere una aprobación similar para la mayoría de países extranjeros. Las reglamentaciones varían de país a país, pero los procedimientos individuales son bien conocidos en la materia y las composiciones y procedimientos proporcionados en la presente memoria se ajustan preferiblemente a ellas por consiguiente.

La dosificación para administrar depende en gran medida de la afección y tamaño del sujeto que se esté tratando, así como de la frecuencia de tratamiento y la vía de administración. Los regímenes para continuar la terapia, incluyendo dosis y frecuencia, pueden estar guiados por la respuesta inicial y el criterio clínico. Se prefiere la vía parenteral de inyección en el espacio intersticial de tejidos, pero pueden requerirse otras vías parenterales, tales como inhalación de una formulación en aerosol, en la administración específica, como por ejemplo a las membranas mucosas de nariz, garganta, tejidos bronquiales o pulmones.

Como tal, se proporciona en la presente memoria un producto farmacéutico que puede incluir un polinucleótido que incluye una secuencia que codifica una respuesta inmunitaria celular o fragmento del mismo en solución en un portador inyectable farmacéuticamente aceptable y adecuado para introducción intersticial en un tejido para causar que las células del tejido expresen un elemento de respuesta inmunitaria celular o fragmento del mismo, un envase que encierra la solución y un aviso asociado al envase en la forma prescrita por la agencia gubernamental que reglamenta la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos, siendo dicho aviso reflejo de la aprobación por la agencia de la fabricación, uso o venta de la solución de polinucleótido para administración humana.

Indicaciones

Las moléculas de ácido nucleico dadas a conocer en la presente memoria pueden usarse para tratar enfermedades, afecciones o trastornos asociados a hsp47, tales como fibrosis hepática, cirrosis, fibrosis pulmonar, fibrosis renal, fibrosis peritoneal, daño hepático crónico y fibrillogénesis, y cualquier otra enfermedad o afección que esté relacionada o responda a los niveles de hsp47 en una célula o tejido, solas o en combinación con otras terapias. Como tales, las composiciones, kits y procedimientos dados a conocer en la presente memoria pueden incluir empaquetar una molécula de ácido nucleico dada a conocer en la presente memoria incluyendo una etiqueta o un prospecto. La etiqueta puede incluir indicaciones para uso de las moléculas de ácido nucleico tales como para uso en el tratamiento o la prevención de fibrosis hepática, fibrosis peritoneal, fibrosis renal y fibrosis pulmonar, y cualquier otra enfermedad o afección que esté relacionada con o responda a los niveles de hsp47 en una célula o tejido, solas o en combinación con otras terapias. Una etiqueta puede incluir una indicación para uso en la reducción

de la expresión de hsp47. Se usa “prospecto” para hacer referencia a las instrucciones incluidas habitualmente en paquetes comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, contraindicaciones, otros productos terapéuticos para combinar con el producto empaquetado y/o advertencias referentes al uso de dichos productos terapéuticos, etc.

Los especialistas en la materia reconocerán que pueden combinarse fácilmente otros tratamientos, fármacos y terapias antifibróticos conocidos en la materia con las moléculas de ácido nucleico de la presente memoria (p.ej. moléculas de ANic) y por ello se contempla en la presente memoria.

Los procedimientos y composiciones proporcionados en la presente memoria se describirán ahora con más detalle por referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

EJEMPLO 1.

Selección de secuencias de molécula de ácido nucleico de hsp47

Se diseñaron moléculas de ácido nucleico (p.ej., ANic ≤ 25 nucleótidos) contra Hsp47 usando varios programas informáticos incluyendo “siRNA at Whitehead” (Whitehead Institute for Biomedical Research), “IDT siRNA Design” (Integrated DNA Technologies), “BLOCK-iT RNAi Designer” (Invitrogen), “siDESIGN Center” (Dharmacon) y “BIOPREDSi” (Friedrich Miescher Institute for Biomedical Research, parte de Novartis Research Foundation, disponible en <http://www.biopredsi.org/start.html>). Se compararon y seleccionaron las secuencias de los ARNic de más puntuación de estos programas (véase la Tabla 1) basándose en los algoritmos así como en la homología de secuencia entre ser humano y rata. Se validaron las secuencias candidatas mediante ensayos de desactivación génica *in vitro*.

Se consideraron varios parámetros para seleccionar una molécula de ácido nucleico (p.ej., una secuencia de ARNic de 21 unidades). Los parámetros ejemplares incluyen:

- 1) estabilidad termodinámica (el RISC favorece la hebra con un extremo 5' menos estable)
- 2) 30-52 % de contenido de GC
- 3) preferencia nucleotídica posicional:
(C/G)NNNNNNNN(A/U)10NNNNNNNN(A/U), en que N es cualquier nucleótido
- 4) desprovisto de presuntos motivos inmunoestimulatorios
- 5) saliente 3' de 2 nucleótidos
- 6) posición de ARNic en el transcrito (preferiblemente en la región de ADNc)
- 7) especificidad de secuencia (comprobada usando BLAST)
- 8) variaciones en un solo nucleótido comprobando la base de datos de SNP

Se diseñaron secuencias de ARNic que tienen ≤ 25 nucleótidos basándose en los procedimientos anteriores. Se diseñaron los correspondientes ARNic de sustrato de Dicer (p.ej., ≥ 26 nucleótidos) basándose en las secuencias menores y extendiendo el sitio diana del ANic ≤ 25 nucleótidos al añadir 4 bases al extremo 3' de la hebra codificante y 6 bases al extremo 5' de la hebra anticodificante. Los sustratos de Dicer que se prepararon tienen generalmente una hebra codificante de 25 bases y una hebra anticodificante de 27 bases con una molécula asimétrica de extremo romo y saliente 3'. Se proporcionan en la Tabla 1 las secuencias de la hebra codificante y anticodificante sin modificación de bases (secuencia de bases) y con modificaciones (secuencia experimental).

EJEMPLO 2

Para cribar la potencia de diversas moléculas de ANic contra genes de hsp47 tanto humano como de rata, se establecieron diversas líneas celulares indicadoras mediante la inducción lentivírica de constructo de ADNc de HSP47 humana-proteína fluorescente verde (GFP) o ADNc de GP46 de rata-GFP en las líneas celulares 293, HT1080, línea HSC humana hTERT o NRK. Se evaluaron adicionalmente en estas líneas celulares los ARNic contra GFP. Se midió la señal de fluorescencia residual, se normalizó con ARNic aleatorizado (Ambion) y se normalizó posteriormente con la viabilidad celular. Los resultados mostraron que los ARNic contra GFP desactivan génicamente la fluorescencia en diferente medida en diferentes líneas celulares (FIG. 1). Se seleccionaron las líneas celulares 293_HSP47-GFP y 293_GP46-GFP para cribado de siHsp47 debido a su facilidad de transfección y sensibilidad a la desactivación génica de la fluorescencia.

Transfección de ARNic:

Se transfectaron las células con 1,5 pmol por pocillo de ARNic contra GFP en placas de cultivo de 96 pocillos usando Lipofectamine RNAiMAX (Invitrogen) en un modo de transfección inversa. Se sembraron las células a 6.000 células por pocillo y se mezclaron con los complejos de ARNic. Se tomaron lecturas de fluorescencia después de 72 horas de incubación en un lector de microplacas multimodal Synergy 2 (BioTek).

Ensayo de viabilidad celular:

Se midió la viabilidad de células tratadas con o sin ANic después de 72 horas de incubación usando el kit de ensayo de viabilidad celular CellTiter-Glo Luminescent según el manual (Promega). Se normalizaron las lecturas con muestras tratadas con moléculas de ANic aleatorizadas.

5 EJEMPLO 3.

Evaluación de la eficacia inhibidora de siHsp47 sobre la expresión de hsp47 en líneas celulares indicadoras

Se evaluó en ANic contra hsp47 su eficacia inhibidora en las líneas celulares 293_HSP47-GFP y 293_GP46-GFP evaluando el cambio de la señal de fluorescencia de la GFP indicadora. Se llevaron a cabo los experimentos como se describe en el Ejemplo 2. Se normalizaron las señales fluorescentes con células tratadas con ARNic aleatorizado (Ambion) que servía como control. Los resultados indican que las moléculas de ANic de hsp47 ensayadas eran eficaces en la inhibición de ARNm de hsp47 en ambas líneas celulares. Sin embargo, el ANic contra ARNm de GP46 (como se publica en el artículo de 2008 de Sato *et al.*) era eficaz solo en la línea celular 293_GP46-GFP. Se muestran los resultados en la FIG. 2 A-B.

Se evaluó en las líneas celulares 293_HSP47-GFP y 293_GP46-GFP tratadas con ARnic contra hsp47 y gp46 la viabilidad usando los procedimientos descritos en el Ejemplo 2. Se normalizó la viabilidad celular con células tratadas con ARNic aleatorizado (Ambion). Los resultados indican que la viabilidad celular no se afectaba significativamente por el tratamiento con moléculas de ANic. Sin embargo, la viabilidad celular de las líneas celulares 293_HSP47-GFP tratadas con diferentes moléculas de ANic de hsp47 variaba dependiendo de las moléculas de ANic usadas, mientras que la viabilidad de las líneas celulares 293_GP46-GFP era similar. La viabilidad de las células 293_HSP47-GFP era menor para células tratadas con siHsp47-6 y Hsp47-7 que el resto. Se muestran los resultados en la FIG. 2C-D.

25 EJEMPLO 4.

Evaluación del efecto inhibidor de siHsp47 sobre ARNm de hsp47 por PCRc TaqMan®

En el Ejemplo 3, se evaluó la eficacia de desactivación génica de siHsp47 en líneas celulares indicadoras por el cambio en la señal fluorescente. Para validar los resultados a nivel de ARNm, se transfectaron ARNic orientados a hsp47 endógena en células de la línea celular HSC humana hTERT usando Lipofectamine RNAiMAX (Invitrogen) en modo de transfección inverso como se describe en el Ejemplo 2.

Se evaluó el nivel de ARNm de hsp47 para la eficacia de desactivación génica de las diversas moléculas de ANic siHsp47 ensayadas. Brevemente, se aisló ARNm de células hTERT después de 72 horas de la transfección usando el minikit RNeasy (Qiagen). Se determinó el nivel de ARNm de hsp47 mediante transcripción inversa acoplada con PCR cuantitativa usando sondas TaqMan®. Brevemente, se llevó a cabo la síntesis de ADNc usando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (ABI) según las instrucciones del fabricante, y se sometió al ensayo de expresión génica TaqMan (ABI, ensayo de hsp47 ID Hs01060395_g1). Se normalizó el nivel de ARNm de hsp47 con el nivel de ARNm de GAPDH según las instrucciones del fabricante (ABI). Los resultados indican que siHsp47-C era el más eficaz entre todos los ARNic de hsp47, siHsp47-2 y siHsp47-2d eran los siguientes más eficaces. Las combinaciones de siHsp47-1 con siHsp47-2 o de siHsp47-1 con siHsp47-2d eran más eficaces que siHsp47-1 solo. Se muestran los resultados en la FIG. 3.

45 EJEMPLO 5.

Validación del efecto desactivador génico de siHsp47 a nivel de proteína

Se validó el efecto inhibidor de diferentes moléculas de ANic de Hsp47 (siHsp47) sobre la expresión de ARNm de hsp47 a nivel de proteína midiendo la HSP47 en células hTERT transfectadas con diferentes siHsp47. Las transfección de células hTERT con diferentes siHsp47 se efectuó como se describe en el Ejemplo 2. Se lisaron las células hTERT transfectadas y se clarificó el lisado celular por centrifugación. Se resolvieron las proteínas en el lisado celular clarificado por electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida. Se determinó el nivel de proteína HSP47 en el lisado celular usando un anticuerpo anti-HSP47 (Assay Designs) como anticuerpo primario, IgG de cabra anti-ratón conjugada con HRP (Millipore) como anticuerpo secundario y se detectó posteriormente por el kit de quimioluminiscencia Supersignal West Pico (Pierce). Se usó anticuerpo anti-actina (Abcam) como control de carga de proteína. El resultado mostró una disminución significativa del nivel de proteína Hsp47 en células tratadas con siHsp47-C, siHsp47-2d, solos o en combinación de siHsp47-1 con siHsp47-2d.

60 EJEMPLO 6.

Regulación negativa de la expresión de colágeno I por ARNic de hsp47

Para determinar el efecto de siHsp47 sobre el nivel de expresión de colágeno I, se midió el nivel de ARNm de colágeno I en células hTERT tratadas con diferentes ARNip contra hsp47. Brevemente, se transfectaron células hTERT con diferentes siHsp47 como se describe en el Ejemplo 2. Se lisaron las células después de 72 horas y se aisló el ARNm usando el minikit RNeasy según el manual (Qiagen). Se determinó el nivel de ARNm de colágeno I mediante transcripción inversa acoplada con PCR cuantitativa usando sondas TaqMan®. Brevemente, se llevó a cabo la síntesis de ADNc usando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (ABI) según el manual y

se sometió al ensayo de expresión génica TaqMan (ABI, ensayo COL1A1 ID Hs01076780_g1). Se normalizó el nivel de ARNm de colágeno I con el nivel de ARNm de GAPDH según las instrucciones del fabricante (ABI). Se normalizaron las señales con la señal obtenida de células transfectadas con ANic aleatorizado. El resultado indicaba que el nivel de ARNm de colágeno I se reduce significativamente en las células tratadas con algunos de los candidatos siHsp47-2, siHsp47-2d y su combinación con siHsp47-1, y se muestra en la FIG. 4.

EJEMPLO 7.

Tinción de inmunofluorescencia de células hTERT tratadas con ARNic de hsp47

Para visualizar la expresión de dos marcadores de fibrosis, colágeno I y actina α de músculo liso (SMA), en células hTERT transfectadas con o sin siHsp47, se tiñeron las células con anticuerpo de conejo anti-colágeno I (Abcam) y anticuerpo de ratón anti- α -SMA (Sigma). Se usaron como anticuerpos secundarios IgG de cabra anti-ratón Alexa Fluor 594 e IgG de cabra anti-conejo Alexa Fluor 488 (Invitrogen (Molecular Probes)) para visualizar colágeno I (verde) y α -SMA (rojo). Se usó Hoescht para visualizar el núcleo (azul). Los resultados indican correlación entre la desactivación génica por ARNic de algunos de los genes diana y la expresión de colágeno-SMA.

EJEMPLO 8.

Ensayo *in vivo* de siHSP47 en modelos animales de fibrosis hepática

ARNic para el tratamiento de cirrosis hepática de rata
La secuencia de dúplex de ARNic para HSP47 (siHSP47C) es como se enumera a continuación.

Codificante (5'→3')

ggacagggccucuaacaacuaTT

Anticodificante (5'→3')

uaguuguagaggccuguccTT

Se prepararon 10 mg/ml de solución madre de ARNic disolviendo en agua exenta de nucleasa (Ambion). Para el tratamiento de ratas cirróticas, se formuló el ARNic con liposomas acoplados con vitamina A como se describe por Sato *et al.* (Sato Y. *et al.* *Nature Biotechnology* 2008. vol. 26, pág. 431) para orientar a células estrelladas hepáticas activadas que producen colágeno. La formulación de vitamina A (VA)-liposoma-ARNic consiste en 0,33 μ mol/ml de VA, 0,33 μ mol/ml de liposoma (Coatsome EL-01-D, NOF Corporation) y 0,5 μ g/ μ l de ARNic en solución de glucosa al 5 %.

Se ha reseñado el modelo animal de cirrosis hepática por Sato *et al.* (Sato Y. *et al.* *Nature Biotechnology* 2008. vol. 26, pág. 431). Se indujo cirrosis hepática en ratas SD macho de 4 semanas con dimetilnitrosoamina al 0,5 % (DMN) (Wako Chemicals, Japón) en solución salina tamponada con fosfato (PBS). Se administró por vía intraperitoneal una dosis de 2 ml/kg de peso corporal durante 3 días consecutivos por semana los días 0, 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 21, 23, 25, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 40

Tratamiento con ARNic: Se llevó a cabo el tratamiento con ARNic a partir del día 32 y durante 5 inyecciones intravenosas. En detalle, se trataron las ratas con ARNic los días 32, 34, 36, 38 y 40. Se sacrificaron entonces las ratas el día 42 o 43. Se ensayaron 3 dosis de ARNic diferentes (1,5 mg de ARNic por kg de peso corporal, 2,25 mg de ARNic por kg de peso corporal, 3,0 mg de ARNic por kg de peso corporal). Los detalles de los grupos ensayados y el número de animales son como sigue:

- 1) Se indujo la cirrosis por inyección de DMN, se inyectó entonces glucosa al 5 % en lugar de ARNic (n=10)
- 2) VA-Lip-siHSP47C 1,5 mg/kg (n=10)
- 3) VA-Lip-siHSP47C 2,25 mg/kg (n=10)
- 4) VA-Lip-siHSP47C 30 mg/Kg (n=10)
- 5) Trat. ficticio (se inyectó PBS en lugar de DMN. Se inyectó glucosa al 5 % en lugar de ARNic) (n=6)
- 6) Sin tratamiento de control (n=6)

VA-Lip hace referencia a complejo de vitamina A-liposoma.

Evaluación de la eficacia terapéutica: El día 43, murieron 2 de 10 animales en el grupo de "ratas enfermas" y 1 animal en el de "ARNic VA-Lip-siHSP47C 1,5 mg/kg" debido al desarrollo de cirrosis hepática. El resto de los animales sobrevivieron. Después de sacrificar las ratas, se fijaron los tejidos hepáticos con formalina al 10 %. Se embebió entonces el lóbulo izquierdo de cada hígado en parafina para histología. Se tiñeron los portaobjetos de tejido con rojo Sirio y hematoxilina y eosina (HE). Se empleó la tinción con rojo Sirio para visualizar los depósitos de colágeno y para determinar el nivel de cirrosis. La tinción con HE era para núcleos y citoplasma como contratinción. Se observó cada portaobjetos al microscopio (BZ-8000, Keyence Corp. Japón) y se determinó el porcentaje de área teñida con rojo Sirio por portaobjetos mediante el software de análisis de imágenes ligado al microscopio. Se prepararon al menos 4 portaobjetos por cada hígado para análisis de imágenes, se capturó el área completa de cada portaobjetos (rodaja de hígado) por la cámara y se analizó. Se llevó a cabo el análisis estadístico por la prueba de t de Student.

Resultados: La FIG. 5 muestra las áreas fibróticas. El área de fibrosis en las “ratas enfermas” era mayor que en los grupos “trat. ficticio” o “control sin tratamiento”. Por lo tanto, el tratamiento con DMN inducía la deposición de colágeno en el hígado, lo que era una observación típica de fibrosis hepática. Sin embargo, el área de fibrosis se reducía significativamente por el tratamiento con ARNic orientado al gen HSP47, en comparación con el grupo de “ratas enfermas” (FIG. 5). Este resultado indica que el ARNic como se da a conocer en la presente memoria tiene eficacia terapéutica en la enfermedad real.

Se ensayaron compuestos de ARNic adicionales en el modelo animal de fibrosis hepática y se mostró que reducían el área fibrótica del hígado.

EJEMPLO 9.

Generación de secuencias para compuestos de ARN bicatenario activo de HSP47/SERPINH1 y producción de los ARNic mostrados en la Tablas A-18, A-19 y B-E

Usando algoritmos registrados y la secuencia conocida de los genes diana, se generaron las secuencias de muchos ARNic potenciales. Las secuencias que se han generado usando este procedimiento eran complementarias de la correspondiente secuencia de ARNm.

Se generan dúplex reasociando oligonucleótidos monocatenarios complementarios. En una campana de flujo laminar, se prepara una solución madre ~500 μ M de oligonucleótido monocatenario diluyendo en WFI (agua para inyecciones, Norbrook). Se determinan las concentraciones reales de ARNm diluyendo cada ARNm 500 μ M 1:200 usando WFI, y midiendo la DO usando Nano Drop. Se repite el procedimiento 3 veces y se calcula la concentración media. Se diluyó entonces la solución madre a una concentración final de 250 μ M. Se reasociaron las hebras individuales complementarias calentando a 85 °C y permitiendo enfriar a temperatura ambiente durante al menos 45 minutos. Se ensayó la reasociación completa de los dúplex ensayando 5 μ l en gel de poliacrilamida al 20 % y tiñendo. Se almacenaron las muestras a -80 °C.

Las tablas A-18, A-19 y B-E proporcionan ARNic para HSP47/SERPINH1. Para cada gen, hay una lista separada de secuencias de ARNic de 19 unidades que se priorizan basándose en sus puntuaciones en el algoritmo registrado como las mejores secuencias para orientar la expresión génica humana.

Se usan las siguientes abreviaturas en la Tablas A-18, A-19 y B-E de la presente memoria: “Otras espec. o esp.” hace referencia a la identidad interespecie con otros animales: D- perro, Rt- rata, Rb- conejo, Rh- mono *Rhesus*, P- cerdo, M- ratón; ORF: marco abierto de lectura. 19 unidades y 18+1 unidades hacen referencia a ácidos ribonucleicos de longitud 19 y 18+1 (U en la posición 1 de la hebra anticodificante, A en la posición 19 de la hebra codificante), respectivamente.

Ensayo *in vitro* de los compuestos de ARNic para los genes diana

Cribado de bajo rendimiento (CBR) para oligonucleótidos de ARNic dirigidos al gen SERPINH1 humano y de rata

Líneas celulares: Se hicieron crecer células PC3 de adenocarcinoma de próstata humanas (ATCC, n° de cat. CRL-1435) en medio RPMI suplementado con FBS al 10 % y L-glutamina 2 mM y se mantuvieron células HeLa de cáncer cervicouterino epitelial humano (ATCC, n° de cat. CCL-2) en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con FBS al 10 % y L-glutamina 2 mM. Se mantuvieron las células a 37 °C en 5 % de CO₂.

Se inocularon aproximadamente 2×10^5 células PC-3 humanas que expresan endógenamente el gen SERPINH1 en 1,5 ml de medio de crecimiento, alcanzando un 30-50 % de confluencia después de 24 horas. Se transfectaron las células con reactivo Lipofectamine™2000 hasta una concentración final de 0,01-5 nM por célula transfectada. Se incubaron las células a 37 ± 1 °C, 5 % CO₂ durante 48 horas. Se recogieron las células transfectadas con ARNic y se aisló el ARN usando el kit EZ-RNA [Biological Industries (n° 20-410-100)].

Se efectuó la transcripción inversa como sigue: Se efectuó la síntesis de ADNc y se determinaron los niveles de ARNm de SERPINH1 humano mediante PCR instantánea y se normalizaron con los de ARNm de ciclofilina A (CYNA, PPIA) para cada muestra. Se determinó la actividad de ARNic basándose en la relación de la cantidad de ARNm de SERPINH1 en muestras tratadas con ARNic frente a muestras de control no transfectadas.

Se seleccionaron las secuencias más activas a partir de ensayos adicionales. De la Tabla A-18, se seleccionaron los compuestos de ARNic SERPINH1_2, SERPINH1_6, SERPINH1_13, SERPINH1_45, SERPINH1_45a, SERPINH1_51, SERPINH1_51a, SERPINH1_52 y SERPINH1_86 como compuestos preferidos. De la Tabla A-19, se seleccionaron los compuestos de ARNic SERPINH1_4, SERPINH1_12, SERPINH1_18, SERPINH1_30, SERPINH1_58 y SERPINH1_88 como compuestos preferidos.

Otros compuestos preferidos incluyen SERPINH1_50, SERPINH1_67, SERPINH1_73 y SERPINH1_74.

Valores de CI_{50} para oligonucleótidos de ARNic de SERPINH1 seleccionados por CBR

Se inocularon aproximadamente 2×10^5 células PC-3 humanas o $0,9 \times 10^5$ células REF52 de rata que expresan endógenamente el gen SERPINH1 en 1,5 ml de medio de crecimiento, alcanzando un 30-50 % de confluencia. Se transfectoron las células con compuestos de ARN bicatenario de SERPINH1 (concretamente SERPINH1_2, 4, 6, 12, 13, 18, 45, 51, 58, 88) con reactivo Lipofectamine™2000, alcanzando concentraciones de transfección finales en el intervalo entre 0,0029-100 nM. Como control negativo, se tratan células con reactivo Lipofectamine™2000 o con ARNic no orientador de secuencia aleatoria sintética a concentraciones finales de 20-100 nM. Se usaron células transfectadas con ARNic marcado con Cy3 como control positivo para la eficacia de transfección.

Se incubaron las células a $37 \pm 1^\circ \text{C}$, 5 % de CO_2 durante 48 horas. Se recogieron las células transfectadas con ARNic y se aisló el ARN usando el kit EZ-RNA [Biological Industries (nº 20-410-100)]. Transcripción inversa: Se efectúa la síntesis de ADNc, se determinaron los niveles de ARNm de SERPINH1 humano mediante PCRC instantánea y se normalizaron con los de ARNm de ciclofilina A (CYNA, PPIA) para cada muestra.

Se determinó el valor de CI_{50} de la actividad de iARN ensayada construyendo una curva de dosis y respuesta usando los resultados de actividad obtenidos con las diversas concentraciones finales de ARNic. Se construyó la curva de dosis y respuesta representando la cantidad relativa de ARNm de SERPINH1 residual frente al logaritmo de la concentración de ARNic transfectado. Se calcula la curva ajustando la mejor curva sigmoidea a los datos medidos. El procedimiento para ajuste sigmoideo es también conocido como ajuste de la curva de 3 puntos.

$$Y = Bot + \frac{100 - Bot}{1 + 10^{(Log.CI_{50} - X) \times \text{pendiente de Hill}}}$$

en que Y es la respuesta de ARNm de SERPINH1 residual, X es el logaritmo de la concentración de ARNic transfectado, Bot es el valor de Y en la meseta inferior, $\log CI_{50}$ es el valor de X cuando está a mitad de camino entre las mesetas inferior y superior y pendiente de Hill es la pendiente de la curva.

Se determinó el porcentaje de inhibición de la expresión génica usando ARNic específicos usando análisis de PCRC del gen diana en células que expresan el gen endógeno. Se ensayan *in vitro* otros compuestos de ARNic según las Tablas A-18, A-19 y B-E, donde se muestra que estos compuestos de ARNic inhiben la expresión génica. Se muestra la actividad como el porcentaje de ARNm residual; por consiguiente, un valor menor refleja una mejor actividad.

Para ensayar la estabilidad de los compuestos de ARNm en suero, se incubaron moléculas de ARNic específicas en 4 lotes diferentes de suero humano (concentración al 100 %) a 37°C durante hasta 24 horas. Se recogen las muestras a las 0,5, 1, 3, 6, 8, 10, 16 y 24 horas. Se determinaron los patrones de migración como indicación en cada tiempo de recogida mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE).

La Tabla 3 muestra la CI_{50} (o actividad cuando no se calculó la CI_{50}) en la línea celular humana de compuestos de ácido nucleico bicatenario no modificados (hebra codificante y anticodificante no modificadas, salientes 3'-terminales dTdT) seleccionados de las Tablas A-18 y A-19.

Tabla 3

ARNic	1ª pos. _aplicod.	estructura	CI50	0,1nM	0,5nM	5nM
SERPINH1_6_S709	U	A2	0,019			
SERPINH1_12_S709	A	A1	0,065			
SERPINH1_23_S709	U	A2	0,377			
SERPINH1_54_S709	A	A1	0,522			
SERPINH1_37_S709	U	A2	0,11			
SERPINH1_73_S709	A	A1	0,189			
SERPINH1_24_S709	U	A2	0,271			
SERPINH1_55_S709	A	A1	0,268			
SERPINH1_60_S709	U	A2	0,163			
SERPINH1_88_S709	A	A1	0,135			
SERPINH1_11_S709	U	A2	0,079			
SERPINH1_30_S709	A	A1	0,093			
SERPINH1_25_S709	U	A2	0,229			
SERPINH1_56_S709	A	A1	0,469			
SERPINH1_5_S709	U	A2	0,178			
SERPINH1_81_S709	G	A1	1,404			
SERPINH1_52_S709	U	A2	0,06			
SERPINH1_58_S709	A	A1	0,304			
SERPINH1_2_S709	U	A2	0,008			
SERPINH1_4_S709	A	A1	0,006			
SERPINH1_43_S709	U	A2	1,403			
SERPINH1_67_S709	A	A1	2,39			
SERPINH1_16_S709	U	A2		134	95	16
SERPINH1_46_S709	A	A1		112	84	28
SERPINH1_8_S709	U	A2		103	90	39
SERPINH1_85_S709	C	A1		166	109	59
SERPINH1_45_S709	U	A2	0.029			
SERPINH1_45a_S1354	A	A2	0.051			

Actividad desactivadora génica de ARNic:

- 5 Se sembraron aproximadamente 2×10^5 células PC-3 humanas que expresan endógenamente el gen SERPINH1 por pocillo en placas de 6 pocillos y se dejaron crecer durante aproximadamente 24 h hasta 30-70 % de confluencia. Se transfectaron las células con los ARNic que se están ensayando a diferentes concentraciones usando el reactivo

Lipofectamine™2000 (Invitrogen). Se incubaron las células a 37 °C en un incubador con 5 % de CO₂ durante 48 h o 72 h. A las 48-72 h después de la transfección, se recolectaron las células y se extrajo el ARN celular. Se usaron dúplex de ARNic marcados con Cy3 como control positivo para la eficacia de transfección. Las células tratadas ficticiamente con reactivo Lipofectamine™2000 se definen como “muestras de control no activas” (control negativo) y las células tratadas con un ARNic activo conocido (HSP47-C) a una concentración final de 5 nM se definen como “muestras activas de control” (control positivo). Z' y el n° de veces el control {n° de veces= media (negativa)/media (positiva)} son las medias que describen la eficacia del ensayo.

Se determinó la inhibición porcentual de la expresión del gen diana por cada ARNic ensayado por análisis de PCRC de un ARNm diana de las células. Se efectuó la transcripción inversa sintetizando ADNc de las células y determinando los niveles de ARNm del gen diana mediante PCRC instantánea. Se normalizaron los niveles de ARNm celulares medidos con los de ARNm de ciclofilina A (CYNA, PPIA) para cada muestra. Se determinó la actividad de ARNic basándose en la relación de la cantidad de ARNm del gen diana de muestras tratadas con ARNic frente a muestras de control no transfectadas. Z' y el n° de veces el control {n° de veces= media (negativa)/media (positiva)} son las medias que describen la eficacia del ensayo.

Los resultados de PCRC son aquellos que pasaron los estándares de CC, concretamente el valor de la pendiente de la curva patrón estaba en el intervalo de [-4, -3], R²>0,99, sin dímeros cebadores. Los resultados que no pasaron los requisitos de CC se inhabilitaron para análisis.

Se determinó el valor de CI₅₀ de la actividad de iARN ensayada mediante la construcción de una curva de dosis y respuesta usando los resultados de actividad obtenidos con las diversas concentraciones finales de ARNic. Se construyó la curva de dosis y respuesta representando la cantidad relativa de ARNm de SERPINH1 residual frente al logaritmo de la concentración de ARNic transfectado, como se describe anteriormente.

Ensayo en la diana y fuera de la diana de las moléculas de ARN bicatenarias:

El sistema psiCHECK posibilita la evaluación de la hebra de guía (GS) (anticodificante) y la hebra pasajera (PS) (hebra codificante) para desencadenar efectos orientados (en la diana) y efectos fuera de la diana mediante la monitorización de los cambios en los niveles de expresión de sus secuencias diana. Se prepararon 4 constructos basados en psiCHECK™-2 (Promega) para la evaluación de la actividad en la diana y la actividad fuera de la diana potencial de cada hebra GS y PS de la molécula de ensayo. En cada uno de los constructos, se clonó una copia o tres copias de la diana completa o la secuencia diana de semilla de PS o GS de la molécula de ensayo en el sitio de clonación múltiple localizado en dirección 3' del codón de terminación traduccional de luciferasa de *Renilla* en la región 3'-UTR.

Los vectores resultantes se denominaron:

1—GS-CM (hebra guía, coincidencia completa): vector que contiene una copia de la secuencia diana completa (secuencia nucleotídica totalmente complementaria de la secuencia de 19 bases entera de la GS de la molécula de ensayo).

2—PS-CM (hebra pasajera, coincidencia completa): vector que contiene una copia de la secuencia diana completa (secuencia nucleotídica totalmente complementaria de la secuencia de 19 bases de la PS de la molécula de ensayo).

3—GS-SM (hebra guía, coincidencia de semilla): vector que contiene una copia o tres copias de la región de semilla de la secuencia diana (secuencia complementaria de los nucleótidos 1-8 de la GS de la molécula de ensayo).

4—PS-SM (hebra pasajera, coincidencia de semilla): vector que contiene una copia de la secuencia diana de la región de semilla (secuencia complementaria de los nucleótidos 1-8 de la PS de la molécula de ensayo).

Nomenclatura:

Hebra guía: Hebra de ARNic que entra en el complejo RISC y guía la escisión/silenciamiento de la secuencia de ARN complementaria.

Secuencia de semilla: Nucleótidos 2-8 desde el extremo 5' de la hebra guía.

cm (coincidencia completa): Fragmento de ADN totalmente complementario de la hebra guía de ARNic. Este fragmento de ADN se clona en 3'-UTR de un gen indicador y sirve como diana para el silenciamiento de ARN directo.

sm (coincidencia de semilla): Fragmento de ADN de 19 unidades con los nucleótidos ns 12-18 totalmente complementarios de los ns 2-8 de la hebra guía del ARNic. Este fragmento de ADN se clona en 3'UTR de un gen indicador y sirve como diana del silenciamiento “fuera de la diana”.

X1: Una única copia de cm o sm clonada en 3'UTR de un gen informador.

X3: Tres copias de cm o sm clonada en 3'UTR de un gen informador, separadas por 4 nucleótidos entre sí.

5

Tabla 4. Ejemplos no limitantes de dianas de clonación en psiCHECK

Nomenclatura	Descripción	Estructura
Nombre de clon S2a_cm_X1	SERPINH1_2, coincidencia completa anticodificante= totalmente complementario de la hebra anticodificante de SERPINH1_2, una única copia	<u>CTCGAGGAGACACATGGGTGCTATAG</u> <u>CGGCCGC</u> SEQ_ID_NO:2724 XhoI-hebra codificante de SERPINH1_2-NotI
S2acmS_X1	La hebra codificante= la hebra del clon S2a_cm_X1 para expresar en el vector, con extremos adhesivos de XhoI y NotI	5'- TCGAGGAGACACATGGGTGCTATAGC SEQ_ID_NO:2725
S2acmA_X1	La hebra complementaria (anticodificante) del clon S2a_cm_X1, con extremos adhesivos de XhoI y NotI	5'- GGCCGCTATAGCACCCATGTGTCTCC SEQ_ID_NO:2726
Nombre de clon S2a_sm_X1	SERPINH1_2, coincidencia de semilla anticodificante, una única copia, los nucleótidos 12-18 son complementarios de los nucleótidos 2-8 de la hebra anticodificante de SERPINH1_2	<u>CTCGAGTCTCAAACGTTGTGCTATCG</u> <u>CGGCCGC</u> SEQ_ID_NO:2727 AS(3'-CTCTGTGTACCCACGATAT) SEQ_ID_NO:2728 Semilla
Nombre de clon S2s_cm_X1	SERPINH1_2, coincidencia completa codificante= completamente complementaria de la hebra codificante de SERPINH1_2= hebra anticodificante, una única copia	<u>CTCGAGTATAGCACCCATGTGTCTCG</u> <u>CGGCCGC</u> SEQ_ID_NO:2729 XhoI-hebra anticodificante de SERPINH1_2-NotI
Nombre de clon S2s_sm_X1	SERPINH1_2, coincidencia de semilla codificante, una única copia, los nucleótidos 12-18 son complementarios de los nucleótidos 2-8 de la hebra codificante de SERPINH1_2	<u>CTCGAGGCGATACAAACTGTGTCTAG</u> <u>CGGCCGC</u> SEQ_ID_NO:2730 S(3'- ATATCGTGGGTACACAGAG) SEQ_ID_NO:2731 Semilla
Nombre de clon S2a_sm_X3	SERPINH1_2, coincidencia de semilla anticodificante, una triple copia	<u>CTCGAGTCTCAAACGTTGTGCTATC</u> <u>ttc</u> <u>cTCTCAAACGTTGTGCTATC</u> <u>ttccTCTCA</u> <u>AACGTTGTGCTATCGCGGCCGC</u> SEQ_ID_NO:2732 (ttcc- un espaciador)
Nombre de clon S2s_sm_X3	SERPINH1_2, coincidencia de semilla codificante, una triple copia	<u>CTCGAGGCGATACAAACTGTGTCTA</u> <u>tt</u> <u>ccGCGATACAAACTGTGTCTA</u> <u>ttccGCG</u> <u>ATACAAACTGTGTCTAGCGGCCGC</u> SEQ_ID_NO:2733 (ttcc- un espaciador)

Se clonan las secuencias diana usando los sitios de enzima de restricción compatibles de XhoI y NotI. Se preparan las mezclas de reasociación en tubos Eppendorf de 0,5 ml ajustadamente cerrados, se calientan en baño de agua a 85 °C, se sumergen en el baño de agua hirviendo y finalmente se enfrían gradualmente hasta temperatura ambiente.

Ligamiento: Se liga el oligonucleótido bicatenario generado por el procedimiento de reasociación con el psiCHECK™-2 linealizado (por XhoI y NotI) y se transfecta en células usando técnicas estándares. Se identificaron las colonias positivas y se secuenciaron para verificación de las secuencias de inserto. La Tabla 5 muestra las secuencias nucleotídicas de los oligonucleótidos insertados.

Tabla 5

ARNic	Nombre comp. del clon	SEQ ID NO:	Secuencia oligonucleotídica (5'>3')
SERPIN H1_11	S11s_cm_X1	2734	GGCCGCCGGACAGGCCTCTACAACAC
		2735	TCGAGTGTGTAGAGGCCTGTCCGGC
	S11a_cm_X1	2736	GGCCGCTGTTGTAGAGGCCTGTCCGC
		2737	TCGAGCGGACAGGCCTCTACAACAGC
	S11s_sm_X1	2738	GGCCGCAGGACAGGAAGAGCACCACC
		2739	TCGAGGTGGTGCTCTTCCTGTCCTGC
	S11a_sm_X1	2740	GGCCGCGGTTGTAGCTTAAGGGAATC
		2741	TCGAGATTCCTTAAGCTACAACCGC
	S11s_sm_X3	2742	GGCCGCAGGACAGGAAGAGCACCACGGAAAGGACAG GAAGAGCACCACGGAAAGGACAGGAAGAGCACCACC
		2743	TCGAGGTGGTGCTCTTCCTGTCCTTTCCGTGGTGCTCT TCCTGTCCTTTCCGTGGTGCTCTTCCTGTCCTGC
SERPIN	S11a_sm_X3	2744	GGCCGCGGTTGTAGCTTAAGGGAATGGAAGGTTGTAG CTTAAGGGAATGGAAGGTTGTAGCTTAAGGGAATC
		2745	TCGAGATTCCTTAAGCTACAACCTTCCATTCCCTTAA GCTACAACCTTCCATTCCCTTAAGCTACAACCGC
SERPIN	S30s_cm_X1	2746	GGCCGCCGGACAGGCCTCTACAACCTC

H1_30		2747	TCGAGAGTTGTAGAGGCCTGTCCGGC
	S30a_cm_X1	2748	GGCCGCGAGTTGTAGAGGCCTGTCCGC
		2749	TCGAGCGGACAGGCCTCTACAACTGC
SERPIN H1_2	S2s_cm_X1	2750	GGCCGCGAGACACATGGGTGCTATAC
		2751	TCGAGTATAGCACCCATGTGTCTCGC
	S2a_cm_X1	2752	GGCCGCTATAGCACCCATGTGTCTCC
		2753	TCGAGGAGACACATGGGTGCTATAGC
	S2s_sm_X1	2754	GGCCGCTAGACACAGTTTGTATCGCC
		2755	TCGAGGCGATACAAACTGTGTCTAGC
	S2a_sm_X1	2756	GGCCGCGATAGCACAAACGTTTGAGAC
		2757	TCGAGTCTCAAACGTTGTGCTATCGC
	S2s_sm_X3	2758	GGCCGCTAGACACAGTTTGTATCGCGGAATAGACACA GTTTGTATCGCGGAATAGACACAGTTTGTATCGCC
		2759	TCGAGGCGATACAAACTGTGTCTATTCCGCGATACAA ACTGTGTCTATTCCGCGATACAAACTGTGTCTAGC
SERPIN H1_4	S4s_cm_X1	2760	GGCCGCGATAGCACAAACGTTTGAGAGGAAGATAGCA CAACGTTTGAGAGGAAGATAGCACAAACGTTTGAGAC
		2761	TCGAGTCTCAAACGTTGTGCTATCTTCTCTCAAACGT TGTGCTATCTTCTCTCAAACGTTGTGCTATCGC
	S4a_cm_X1	2762	GGCCGCGAGACACATGGGTGCTATTC
SERPIN H1_6	S6s_cm_X1	2763	TCGAGAATAGCACCCATGTGTCTCGC
		2764	GGCCGCAATAGCACCCATGTGTCTCC
	S6a_cm_X1	2765	TCGAGGAGACACATGGGTGCTATTGC
		2766	GGCCGCACAAGATGCGAGACGAGTAC
	S6s_sm_X1	2767	TCGAGTACTCGTCTCGCATCTTGTGC
		2768	GGCCGCTACTCGTCTCGCATCTTGTC
	S6a_sm_X1	2769	TCGAGACAAGATGCGAGACGAGTAGC
		2770	GGCCGCCCAAGATGATCTAATCTGCC
	S6s_sm_X3	2771	TCGAGGCAGATTAGATCATCTTGGGC
		2772	GGCCGCGACTCGTCGATACTAGGTGC
	S6a_sm_X3	2773	TCGAGCACCTAGTATCGACGAGTCGC
		2774	TCGAGGCAGATTAGATCATCTTGGTTCCGCAGATTAG ATCATCTTGGTTCCGCAGATTAGATCATCTTGGGC
SERPIN H1_12	S12s_cm_X1	2775	GGCCGCCCAAGATGATCTAATCTGCGGAACCAAGATG ATCTAATCTGCGGAACCAAGATGATCTAATCTGCC
		2776	GGCCGCGACTCGTCGATACTAGGTGGGAAGACTCGTC GATACTAGGTGGGAAGACTCGTCGATACTAGGTGC
	S12a_cm_X1	2777	TCGAGCACCTAGTATCGACGAGTCTTCCCACCTAGTAT CGACGAGTCTTCCCACCTAGTATCGACGAGTCGC
		2778	GGCCGCACAAGATGCGAGACGAGTTC
SERPIN H1_45a	S450s_cmX1	2779	TCGAGAACTCGTCTCGCATCTTGTGC
		2780	GGCCGCAACTCGTCTCGCATCTTGTC
		2781	TCGAGACAAGATGCGAGACGAGTTGC
SERPIN H1_45a	S450s_cmX1	2782	GGCCGCACTCCAAGATCAACTTCCTC
		2783	TCGAGAGGAAGTTGATCTTGGAGTGC

(SERPINH1_45_S450)	S450a_cmX1	2784	GGCCGCAGGAAGTTGATCTTGGAGTC
		2785	TCGAGACTCCAAGATCAACTTCCTGC
	S450s_smX1	2786	GGCCGCCCTCCAAGCGACCATGAAGC
		2787	TCGAGCTTCATGGTCGCTTGGAGGGC
	S450a_smX1	2788	GGCCGCCGGAAGTTTCGATGTTCTGC
		2789	TCGAGCAGAACATCGAAACTTCCGGC
	S450s_smX3	2790	GGCCGCCCTCCAAGCGACCATGAAGGGAACCTCCAAGCGACCATGAAGGGAACCTCCAAGCGACCATGAAGC
		2791	TCGAGCTTCATGGTCGCTTGGAGGTTCCCTTCATGGTCGCTTGGAGGTTCCCTTCATGGTCGCTTGGAGGGC
	S450a_smX3	2792	GGCCGCCGGAAGTTTCGATGTTCTGGGAACGGAAGTTTCGATGTTCTGGGAACGGAAGTTTCGATGTTCTGC
		2793	TCGAGCAGAACATCGAAACTTCCGTTCCGAGAACATCGAAACTTCCGGC
SERPINH1_51	S51s_cm_X1	2794	GGCCGCTCCTGAGACACATGGGTGAC
		2795	TCGAGTCACCCATGTGTCTCAGGAGC
	S51a_cm_X1	2796	GGCCGCTCACCCATGTGTCTCAGGAC
		2797	TCGAGTCCTGAGACACATGGGTGAGC
	S51s_sm_X1	2798	GGCCGCGCCTGAGAACACGTGTGTCC
		2799	TCGAGGACACACGTGTTCTCAGGCGC
	S51a_sm_X1	2800	GGCCGCGCACCCATTGTGATACTTCC
		2801	TCGAGGAAGTATCACAATGGGTGCGC
	S51s_sm_X3	2802	GGCCGCGCCTGAGAACACGTGTGTCTCGGAAGCCTGAGAACACGTGTGTCTCGGAAGCCTGAGAACACGTGTGTCC
		2803	TCGAGGACACACGTGTTCTCAGGCTTCCGACACACGTGTTCTCAGGCTTCCGACACACGTGTTCTCAGGCGC
SERPINH1_86	S86s_cm_X1	2804	GGCCGCGCACCCATTGTGATACTTCCGGAAGCACCCAT
		2805	TGTGATACTTCCGGAAGCACCCATTGTGATACTTCC
	S86a_cm_X1	2806	GGCCGCACAGGCCTCTACAACTACAC
		2807	TCGAGTGTAGTTGTAGAGGCCTGTGC
	S86s_sm_X1	2808	GGCCGCTGTAGTTGTAGAGGCCTGTC
		2809	TCGAGACAGGCCTCTACAACTACAGC
	S86a_sm_X1	2810	GGCCGCACAGGCCTAGCACAAGCACC
		2811	TCGAGGTGCTTGTGCTAGGCCTGTGC
	S86s_sm_X3	2812	GGCCGCGGTAGTTGGCTCTGAAGTGC
		2813	TCGAGCACTTCAGAGCCAACCTACCGC
	S86a_sm_X3	2814	GGCCGCACAGGCCTAGCACAAGCACGGAAACAGGCC
		2815	TAGCACAAGCACGGAAACAGGCCTAGCACAAGCACC
	S86a_sm_X3	2816	TCGAGGTGCTTGTGCTAGGCCTGTTCCGTGCTTGTGCTAGGCCTGTTCCGTGCTTGTGCTAGGCCTGTGC
		2817	GGCCGCGGTAGTTGGCTCTGAAGTGGGAAGGTAGTTGGCTCTGAAGTGGGAAGGTAGTTGGCTCTGAAGTGC

SERPIN H1_52	S52s_cm_X1	2818	GGCCGCGACAAGATGCGAGACGAGAC
		2819	TCGAGTCTCGTCTCGCATCTTGTGCGC
	S52a_cm_X1	2820	GGCCGCTCTCGTCTCGCATCTTGTCC
		2821	TCGAGGACAAGATGCGAGACGAGAGC
	S52s_sm_X1	2822	GGCCGCTACAAGATTATCTCATCTCC
		2823	TCGAGGAGATGAGATAATCTTGTAGC
	S52a_sm_X1	2824	GGCCGCGCTCGTCTATACTAGGTGAC
		2825	TCGAGTCACCTAGTATAGACGAGCGC
	S52s_sm_X3	2826	GGCCGCTACAAGATTATCTCATCTCGGAATACAAGAT TATCTCATCTCGGAATACAAGATTATCTCATCTCC
		2827	TCGAGGAGATGAGATAATCTTGTATTCCGAGATGAGA TAATCTTGTATTCCGAGATGAGATAATCTTGTAGC
SERPIN H1_58	S58s_cm_X1	2828	GGCCGCGCTCGTCTATACTAGGTGAGGAAGCTCGTCT ATACTAGGTGAGGAAGCTCGTCTATACTAGGTGAC
		2829	TCGAGTCACCTAGTATAGACGAGCTTCTCACCTAGT ATAGACGAGCTTCTCACCTAGTATAGACGAGCGC
	S58a_cm_X1	2830	GGCCGCGACAAGATGCGAGACGAGTC
		2831	TCGAGACTCGTCTCGCATCTTGTGCGC
SERPIN H1_95	S95s_cm_X1	2832	GGCCGCACTCGTCTCGCATCTTGTCC
		2833	TCGAGGACAAGATGCGAGACGAGTGC
	S95a_cm_X1	2834	GGCCGCACTCCAAGATCAACTTCCGC
		2835	TCGAGCGGAAGTTGATCTTGGAGTGC
SERPIN H1_96	S96s_cm_X1	2836	GGCCGCCGGAAGTTGATCTTGGAGTC
		2837	TCGAGACTCCAAGATCAACTTCCGGC
	S96a_cm_X1	2838	GGCCGCTCCTGAGACACATGGGTGCC
		2839	TCGAGGCACCCATGTGTCTCAGGAGC
SERPIN H1_97	S97s_cm_X1	2840	GGCCGCGCACCCATGTGTCTCAGGAC
		2841	TCGAGTCCTGAGACACATGGGTGCGC
	S97a_cm_X1	2842	GGCCGCACAGGCCTCTACAACACTACTC
		2843	TCGAGAGTAGTTGTAGAGGCCTGTGC
		2844	GGCCGCAGTAGTTGTAGAGGCCTGTGC
		2845	TCGAGACAGGCCTCTACAACACTACTGC

Se clonaron las hebras relevantes, como se describen en la presente memoria, en la 3'UTR del ARNm indicador de luciferasa de *Renilla* en el vector psiCHECK™-2 (Promega). Se usaron XhoI y NotI como sitios de clonación usando técnicas de biología molecular estándares. Se sintetizó químicamente cada hebra, se reasoció por calentamiento a 100 °C y se enfrió a temperatura ambiente. Se llevó a cabo el ligamiento durante 3 horas usando técnicas de biología molecular estándares y se transformó en células DH5a de *E. coli*. Se cribó en las colonias resultantes la presencia de constructos de plásmido por PCR de colonias usando cebadores relevantes. Se purificó cada uno de los plásmidos (vectores) a partir de una colonia positiva y se verificó su secuencia.

Se inocularon aproximadamente $1,3 \times 10^6$ células HeLa humanas en un disco de 10 cm. Se incubaron entonces las células a 37 ± 1 °C en incubador con 5 % de CO₂ durante 24 horas. Se reemplazó el medio de crecimiento un día después de la inoculación por 8 ml de medio de crecimiento reciente y se transfectó cada placa con uno de los plásmidos mencionados anteriormente usando reactivo Lipofectamine™2000 según el protocolo de fabricación, y se incubaron durante 5 horas a 37 ± 1 °C y 5 % de CO₂. Después de la incubación, se sembraron las células en una placa de 96 pocillos a una concentración final de 5×10^5 células por pocillo en 80 µl de medio de crecimiento. 16 horas después, se transfectaron las células con moléculas de ARN_i de SERPINH1 usando reactivo Lipofectamine™2000 a diferentes concentraciones en el intervalo de 0,001 nM a 5 nM en un volumen final de 100 µl. Las células tratadas ficticiamente con reactivo Lipofectamine™2000 con el correspondiente plásmido psiCHECK™-2 se definen como “muestras de control no activas” (control negativo) y las células tratadas con un ARN_i activo conocido (HSP47-C) a una concentración final de 5 nM se definen como “muestras activas de control” (control

positivo). Z' y n° de veces el control {n° de veces= media (negativa)/media (positiva)} son las medias que describen la eficacia del ensayo.

Se incubaron entonces las células durante 48 horas a 37 ± 1 °C y se midieron las actividades de luciferasa de *Renilla* y luciérnaga en cada una de las muestras transfectadas con ARNic usando el kit de ensayo Dual-Luciferase® (Promega, n° de cat. E1960) según el procedimiento del fabricante. La actividad de un ARNic sintético hacia esta secuencia diana da como resultado la escisión y posterior degradación del ARNm fusionado o, en la traducción, la inhibición de la proteína codificada. Medir la disminución de la actividad de luciferasa de *Renilla* proporciona por tanto un modo conveniente de monitorización del efecto de ARNic, mientras que la luciferasa de luciérnaga permite la normalización de la expresión de luciferasa de *Renilla*. Se dividió el valor de la actividad de luciferasa de *Renilla* entre el valor de actividad de luciferasa de luciérnaga para cada muestra (normalización). La actividad de luciferasa de *Renilla* se expresa finalmente como el porcentaje de valor de actividad normalizado en una muestra ensayada respecto a las "muestras de control no activas".

Resultados de los niveles de TNF α e IL-6 en células mononucleares de sangre periférica (PMNC) expuestas a ARNic no modificado o modificado/Lipofectamine™2000. Los resultados se proporcionan en valores de pg/ml calculados basándose en la curva patrón. "Control Lipofec2000" se refiere al nivel de secreción de citocina inducido por el reactivo de transfección Lipofectamine™2000. Ninguno de los compuestos modificados eleva los niveles de citocinas TNF α o IL-6 por encima de aquellos del reactivo de transfección de control.

		Donante II	
		TNF α	IL-6
control		162+/-280	
Control Lipofec2000		308+/-75	1303+/-440
ARNbc de SEQ ID NO: 101 y 168 no modificado	860nM	610	2915
	287nM	6963	4021
	96nM	641	2278
	32nM	1095	4126
Compuesto_4	860nM	660+/-227	1166+/-280
	287nM	484+/- 84	1844+/-1072
	96nM	571+/-170	2015+/-1667
	32nM	865+/-90	2201+/-952

		Donante I		Donante II	
		TNF α	IL-6	TNF α	IL-6
control			115+/-64	162+/-280	
control Lipofec2000		427+/-87	1848+/- 194	308+/-75	1303+/-440
ARNbc de SEQ ID NO: 60 y 127 no modificado	860nM	326	1014	873	4015
	287nM	305	638	909	3046
	96nM	546	1007	690	2451
	32nM	707	1331	637	2159
Compuesto_1	860nM	491	1480	1017	4492
	287nM	363	956	981	3126
	96nM	294	840	952	2491
	32nM	355	848	902	2779

		Donante I	
		TNFa	IL-6
control			115+/-64
control Lipofec2000		427+/-87	1848+/- 194
ARNbc de SEQ ID NO: 63 y 130 no modificado	860nM	228	553
	287nM	395	569
	96nM	561	966
	32nM	737	1021
Compuesto_2	860nM	598	1560
	287nM	621	1440
	96nM	570	1825
	32nM	517	1510

		Donante I		Donante II	
		TNFa	IL-6	TNFa	IL-6
control			115+/-64	162+/-280	
control Lipofec2000		427+/-87	1848+/- 194	308+/-75	1303+/-440
ARNbc de SEQ ID NO: 98 y 165 no modificado	860nM	137	225	521	4223
	287nM	750	105	463	3755
	96nM	504	180	627	2784
	32nM	312	442	711	3084
Compuesto_3	860nM	540	2170	1474	3896
	287nM	698	2428	1000	1864
	96nM	582	1876	1089	1760
	32nM	614	1341	724	1044

Los resultados son en pg/ml

		Donante I		Donante II	
		TNFa	IL-6	TNFa	IL-6
Células de control			115+/-64	162+/-280	
CL075 (ug/ml)	2	13878		26464	
	0,67	8115	28471	17013	
	0,22	1575	10873	7589	22111
	0,074	219	906	1389	7072

- 5 Datos para la inducción de los genes sensibles a interferón (IFN) MX1 e IFIT1, por compuestos de ácido nucleico bicatenario no modificados y modificados. Los resultados mostrados son los genes IFIT1 y MX1 humanos residuales (nº de veces de las células tratadas con control Lipofectamine-2000) ensayados en PMNC humanos. Los datos muestran que todos los compuestos modificados inducían niveles despreciables de genes en dirección 3' de IFN, en comparación con los compuestos no modificados (_S709).

	Donante II	
	IFIT1	MX1
Ctrl Lipo2000	1	1
ARNbc de SEQ ID NO: 101 y 168 no modificado		
32nM	5,5	3,3
96nM	7,5	4,3
297nM	3,9	3,8
860nM	0,8	0,8
Compuesto_4		
32nM	1,2+/-0,5	1,7+/-0,35
96nM	1,1+/-0,3	1,5+/-0,06
297nM	0,7+/-0,3	0,9+/-0,7
860nM	0,6+/-0,1	0,9+/-0,5

	Donante I		Donante II	
	IFIT1	MX1	IFIT1	MX1
Ctrl Lipo2000	1	1	1	1
ARNbc de SEQ ID NO: 60 y 127 no modificado				
32nM	27,9	-	2,2	2,7
96nM	42,1	18,3	4,0	5,0
297nM	53,8	18,0	3,4	2,8
860nM	39,4	16,3	3,3	3,6
Compuesto_1				
32nM	1,2	0,2	0,8	1,3
96nM	1,3	0,8	1,5	1,1
297nM	1,1	0,3	1,2	1,6
860nM	1,0	0,3	0,3	0,3

	Donante I		Donante II	
	IFIT1	MX1	IFIT1	MX1
Ctrl Lipo2000	1	1.00	1	1
ARNbc de SEQ ID NO: 98 y 165 no modificado				
32nM	29,7	18,5	4,3	4,1
96nM	39,1	19,2	3,5	
297nM	25,1	9,3	4,8	5,2
860nM			3,8	3,7
Compuesto_3				
32nM	1,4	0,4	1,0	1,4
96nM	1,7	1,3	1,3	1,1
297nM	1,9	1,4	1,1	1,4
860nM	5,2	2,5	1,1	1,4

	Donante I	
	IFIT1	MX1
Ctrl Lipo2000	1	1
ARNbc de SEQ ID NO: 63 y 130 no modificado		
32nM	29,6	17,8
96nM	31,5	16,1
297nM		
860nM	36,6	11,4
Compuesto_2		
32nM	1,6	0,7
96nM	1,1	1,0
297nM	2,1	0,2
860nM	1,8	1,4

	Donante I		Donante II	
	IFIT1	MX1	IFIT1	MX1
Células de control	1	1	1	1
0,125	18		5,4	3,7
0,56	26	11	4,9	4,7
1,7	41	14	4,5	5,1
5	24	7	0,9	0,8
0,075	4	2	1,8	1,8
0,12	27	10	4,5	3,6
0,67	21		4,6	4,2
2	26	12	4,1	3,7

- 5 Las tablas siguientes muestran la actividad de Compuesto_1, Compuesto_2, Compuesto_3 y Compuesto_4 en comparación con compuestos no modificados (_S709) en células de rata. Se muestran los resultados como gen SERPINH1 de rata diana residual (% de las células tratadas con control Lipofectamine™2000) en células REF52. Se muestran los resultados de dos experimentos separados. La desactivación génica del gen diana en células de rata es relevante para ensayar compuestos en modelos animales de enfermedad humana.

	Ctrl Lipo2000	Estudio 1	Estudio 2
		100	100
ARNbc de SEQ ID NO: 60 y 127 no modificado	0,8nM	52	36
	2nM	25	31
	10nM	16	28
	50nM	8	4
Compuesto_1	0,8nM	53	14
	2nM	39	14
	10nM	19	24
	50nM	7	4

		Estudio 1	Estudio 2
	Ctrl Lipo2000	100	100
ARNbc de SEQ ID NO: 63 y 130 no modificado	0,8nM	45	15
	2nM	28	18
	10nM	13	12
	50nM	12	8
Compuesto_2	0,8nM	76	78
	2nM	61	68
	10nM	37	28
	50nM		4

		Estudio 1	Estudio 2
	Ctrl Lipo2000	100	100
ARNbc de SEQ ID NO: 98 y 165 no modificado	0,8nM	72	65
	2nM	43	41
	10nM	32	42
	50nM	28	27
Compuesto_3	0,8nM	88	30
	2nM	39	24
	10nM	24	23
	50nM	6	23

		Estudio 3	Estudio 4
	Ctrl Lipo2000	100	100
Compuesto_4	0,8nM	66	106
	2nM	35	32
	10nM	10	12
	50nM	6	9

5 Ensayo de estabilidad sérica

Se ensayó en los compuestos modificados de la presente invención la estabilidad del dúplex en suero humano o extracto de tejido humano como sigue:

- 10 Se incuban moléculas de ARNic a una concentración final 7 μ M a 37 °C en 100 % de suero humano (Sigma nº de cat. H4522). (solución madre de ARNic 100 μ M diluida en suero humano 1:14,29 o extracto de tejido humano de diversos tipos de tejido). Se añaden cinco μ l (5 μ l) a 15 μ l de tampón de carga 1,5×TBE en diferentes momentos (por ejemplo, 0, 30 min, 1 h, 3 h, 6 h, 8 h, 10 h, 16 h y 24 h). Se congelaron inmediatamente las muestras en nitrógeno líquido y se mantuvieron a -20 °C.

- 15 Se carga cada muestra en un gel de acrilamida al 20 % no desnaturante preparado según procedimientos conocidos en la materia. Se visualizaron los oligonucleótidos con bromuro de etidio bajo luz UV.

Ensayo de estabilidad ante exonucleasa

Para estudiar el efecto de estabilización de restos no nucleotídicos 3' en una molécula de ácido nucleico, se incuban la hebra codificante, la hebra anticodificante y el dúplex de ARNic reasociado en extractos citosólicos preparados a partir de diferentes tipos celulares.

Extracto: Extracto citosólico HCT116 (12 mg/ml).

Tampón de extracción: Se añadió inmediatamente antes de usar Hepes 25 mM pH-7,3 at 37 °C; MgCl₂ 8 mM; NaCl 150 mM con DTT 1 mM reciente.

Procedimiento: Se mezclaron 3,5 ml de ARNic de ensayo (100 mM) con 46,5 ml que contienen 120 mg de extracto citosólico HCT116. Los 46,5 ml consisten en 12 ml de extracto HCT116 y 34,5 ml de tampón de extracto suplementado con DTT y cóctel de inhibidores de proteasa/100 (Calbiochem, setIII-539134). La concentración final del ARNic en el tubo de incubación es 7 mM. Se incubó la muestra a 37 °C y en el momento indicado se transfirieron 5 ml a un tubo nuevo, se mezclaron con 15 ml de tampón de carga 1×TBE-50 % de glicerol y se congelaron instantáneamente en N₂ líquido. La concentración final de ARNic en el tampón de carga es 1,75 mM (21 ng de ARNic/ml). Para análisis por PAGE nativo y tinción con EtBr, se cargan 50 ng por carril. Para análisis Northern, se cargó 1 ng de ARNic ensayado por carril.

Respuesta inmunitaria innata ante moléculas de ARNic de SERPINH1:

Se mezcló sangre humana reciente (a TA) a relación 1:1 con NaCl al 0,9 % estéril a TA y se cargó suavemente (relación 1:2) en Ficoll (Lymphoprep, Axis-Shield n° de cat. 1114547). Se centrifugaron las muestras a TA (22 °C, 800 g) en una centrífuga oscilante durante 30 minutos, se lavaron con medio RPMI1640 y se centrifugaron (TA, 250 g) durante 10 minutos. Se contaron las células, se sembraron a una concentración final de $1,5 \times 10^6$ células/ml en medio de crecimiento (RPMI1640+ 10 % de FBS+ L-glutamina 2 mM+1 % de Pen-Strep) y se incubaron durante 1 hora a 37 °C antes del tratamiento con ARNic.

Se trataron entonces las células con los ARNic que se están ensayando a diferentes concentraciones usando el reactivo Lipofectamine™2000 (Invitrogen) según las instrucciones del fabricante y se incubaron a 37 °C en un incubador con 5 % de CO₂ durante 24 horas.

Como control positivo para la respuesta de IFN, se trataron células con poli(I:C), un análogo sintético de un ARN bicatenario (ARNbc) que es un ligando de TLR3 (InvivoGen n° de cat. tlr1-pic) a concentraciones finales de 0,25-5,0 µg/ml o tiazolaquinolona (CLO75), un ligando de TLR 7/8 (InvivoGen n° de cat. tlr1-c75) a concentraciones finales de 0,075-2 µg/ml. Se usaron células tratadas con reactivo Lipofectamine™2000 como control negativo (de referencia) para la respuesta de IFN.

Aproximadamente a las 24 horas después de la incubación, se recogieron las células y se transfirió el sobrenadante a tubos nuevos. Se congelaron las muestras inmediatamente en nitrógeno líquido y se ensayó la secreción de las citocinas IL-6 y TNF-α usando el kit ELISA de IL-6 DuoSet (R&D System DY2060) y el kit ELISA de TNF-α DuoSet (R&D System DY210) según las instrucciones del fabricante. Se extrajo el ARN de los sedimentos celulares y se midieron los niveles de ARNm de los genes humanos IFIT1 (proteína inducida por interferón con repeticiones de tetratricopéptido 1) y MX1 (proteína 78 inducible por interferón de resistencia a mixovirus 1 (virus de la gripe)) por PCRc. Se normalizaron las cantidades de ARNm medidas con la cantidad de ARNm del gen de referencia peptidilprolil isomerasa A (ciclofilina A; CicloA). Se evaluó la inducción de la señalización de IFN comparando la cantidad de ARNm de los genes IFIT1 y MX1 de células tratadas respecto a sus cantidades de células no tratadas. Los resultados de PCRc son aquellos que pasaron los estándares de CC, concretamente el valor de la pendiente de la curva patrón estaba en el intervalo de [-4, -3], R²>0,99, sin dímeros cebadores. Los resultados que no pasaron los requisitos de CC se inhabilitaron para análisis.

La Tabla 6 muestra los compuestos de SERPINH1ic. Se presentan en la Tabla 6 los datos de actividad y estabilidad para algunos de los compuestos. Se presenta el código de la estructuras de hebra codificante y anticodificante en la Tabla 7 siguiente.

Tabla 6

Nombre	Estab. en plasma (h)	% residual 5nM		% residual 25nM			Código de la hebra codificante 5->3	Código de la hebra anticodificante 5->3
		001	002	003	004	006		
SERPINH1_2_ S1356	10	16	10	9			zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC ;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2 p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG ;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1357							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC ;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2 p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG ;mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1358	16	52	41				zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC ;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2 p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG; mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1359							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC ;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2 p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;r U;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1360	10	47	31	8	20		zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC ;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2 p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;rC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;r U;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1361	8	31	34				zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC ;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2 p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;rC2p;rA; mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;r G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1362							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC ;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2 p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;LdC;rA;m C;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;r U;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1363	17	10	15	25			zc3p;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC ;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG

						p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1364						zc3p;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1365	16	41	52			zc3p;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1366						zc3p;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1367	16	51	39			zc3p;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;mC;rC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;rU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1368						zc3p;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;rC2p;rA;mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1369						zc3p;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;rG;LdC;rA;mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1370	17	15		61	20	zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1371						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1372	16	74	66			zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1373	8	48	65			zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1374	16	39	110	6		zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;mC;rC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;rU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1375						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;rC2p;rA;mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1376						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;LdC;rA;mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1377	3			25	5	zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;rG;mC;mU;rA;LdT;rA\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1378						zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG

							G;mC;mU;rA;LdT;rA\$	mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1379							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;mC;mU;rA;LdT;rA\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG; mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1380	8	23	33				zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;mC;mU;rA;LdT;rA\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;r U;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1381	16	25	56	12			zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;mC;mU;rA;LdT;rA\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;rC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;r U;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1382	8	22	31	11			zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;mC;mU;rA;LdT;rA\$	mU;rA;mU;rA;rG;rC2p;rA; mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;r G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1383							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;mC;mU;rA;LdT;rA\$	mU;rA;mU;rA;rG;LdC;rA;m C;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;r U;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1384	16	7	20	7	4		zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1385	16	55	37				zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1386	16	42	45				zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG; mU;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1387							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;r U;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1388	16	21	39				zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;mC;rA;m C;rC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;r U;mC;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1389	16	20	27				zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;rC2p;rA; mC;mC;rC;rA;mU;rG;mU;r G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1390							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;rG;LdC;rA;m C;mC;rC;rA;mU;rG;mU;rG;r U;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1687							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;m C;rA;rU;rG;rG;rG;mU;rG;r C;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1694	24						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;m C;rA;rU2p;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p; rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;m G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1700	16						zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;rU2p;rA;zc3p \$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p; rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;m G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1705	10						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2 p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p; rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;m G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_2_ S1707	10					zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1754	24					zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1755	24					zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p	rU2p;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1756						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	rU2p;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1787						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc3p	dU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_4_ S1391	0		58			zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rU2p	rA;mA;rU;mA;rG;mC;rA;mC;rC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_4_ S1782						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2p;rU2p;rA2p;rU2p;rU2p;zc3p	rA;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1356						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1363						zc3p;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1370						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1414						zc3p;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1415						zc3p;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;rC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1416						zc3p;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;rC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1417						zc3p;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1418						zc3p;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;rU;mC;rG;LdT;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_6_ S1419						zc3p;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1420						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1421						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;rC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1422						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;rC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1423						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1424						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;rU;mC;rG;LdT;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1425						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1426						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1427						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;rC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1428						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;rC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1429						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1430						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;LdT;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1431						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p;rA2p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1432	0	6	19	15		zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;LdT;rA\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1435	6	37	46			zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;LdT;rA\$	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;rC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_6_3 S1436	3	10	17	5			zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC; rG;rA;rG;LdT;rA\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;m C;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_3 S1437	3						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC; rG;rA;rG;LdT;rA\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;LdT;r C;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_3 S1438	3	15	17				zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC; rG;rA;rG;LdT;rA\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_24 S1439	24	12	23	11			zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC; rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;r C;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_24 S1442	24	29					zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC; rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;mU;mC;rG;mU; mC;mU;rC;rG;mC;rA;rU;m C;mU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_24 S1443	24	9	22	7			zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC; rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;m C;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_24 S1444	24						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC; rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;LdT;r C;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_24 S1445	24		19	18			zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC; rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_24 S1739	24					11	zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;r U;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;r G;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_24 S1741	24					12	zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;r U;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;r G;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC; rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_0 S1744	0						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_0 S1746	0						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_0 S1785	0						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;rU rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;r G;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	dU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;r C;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC; rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11 _S1356							zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2 p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rU;mG;rU;mA;r G;mA;rG;mG;rC;mC;rU;mG rU;mC;rC;mG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11 _S1363							zc3p;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2 p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rU;mG;rU;mA;r G;mA;rG;mG;rC;mC;rU;mG rU;mC;rC;mG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11 _S1370							zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2 p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc 3p\$	mU;rG;mU;rU;mG;rU;mA;r G;mA;rG;mG;rC;mC;rU;mG rU;mC;rC;mG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11 _S1446							zc3p;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2 p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;mU;rG;mU;rA;r G;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG; mU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_11_S1449						zc3p;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;mU;rG;rU2p;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1450						zc3p;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;mU;rG;LdT;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1451						zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;mU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1454						zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;mU;rG;rU2p;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1455						zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;mU;rG;LdT;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1456						zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc3p\$	mU;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;mU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1457						zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc3p\$	mU;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;rC;mC;mU;rG;mU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1459						zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc3p\$	mU;rG;mU;mU;rG;rU2p;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1460						zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2p;rA2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc3p\$	mU;rG;mU;mU;rG;LdT;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1461						zidB;mC;rG;rG;rA;mC;rA;rG;rG;rC;mC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;LdC;rA\$	mU;rG;mU;rU;mG;rU;mA;rG;mA;rG;mG;rC;mC;rU;mG;rU;mC;rC;mG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1462						zidB;mC;rG;rG;rA;mC;rA;rG;rG;rC;mC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;LdC;rA\$	mU;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;mU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1464		45	43			zidB;mC;rG;rG;rA;mC;rA;rG;rG;rC;mC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;LdC;rA\$	mU;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1467						zidB;mC;rG;rG;rA;mC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;rU;mG;rU;mA;rG;mA;rG;mG;rC;mC;rU;mG;rU;mC;rC;mG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1468						zidB;mC;rG;rG;rA;mC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;mU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1469						zidB;mC;rG;rG;rA;mC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;rC;mC;mU;rG;mU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11_S1470						zidB;mC;rG;rG;rA;mC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_11 _S1471						zidB;mC;rG;rG;rA;mC;rA; rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA; mC;rA;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;mU;rG;rU2p;rA; rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;r U;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_11 _S1472						zidB;mC;rG;rG;rA;mC;rA; rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA; mC;rA;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;mU;rG;LdT;rA;r G;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;r U;mC;mC;rG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_12 _S1391						zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU ;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC;rG2 p;rA2p;rG2p;rU2p;rU2p	rA;mA;rC;mU;rC;mG;rU;m C;rU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;r U;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_12 _S1780						zidB;rA;mC;rA;mA;rG;rA; rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC; rG;rA;rG;mU;rU;zc3p\$	rA;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;r C;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC;r U;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_30 _S1391						zidB;rC;rG;rG;rA;rC;rA;rG ;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC2 p;rA2p;rA2p;rC2p;rU2p	rA;mG;rU;mU;rG;mU;rA;m G;rA;rG;mG;rC;mC;rU;mG; rU;mC;rC;mG;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1354		174	40			rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA;rG;r A;rU;rC;rA;rA;rC;rU;rU;r C;rC;yrU;zdT;zdT\$	yrA;rG;rG;rA;rA;rG;rU;rU;r G;rA;rU;rC;rU;rU;rG;rG;rA; rG;rU;zdT;zdT\$
SERPINH1_45 _S1500	16	96	54			zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	ymA;rG;rG;rA;rA;rG;mU;m U;rG;rA;mU;mC;mU;mU;rG ;rG;rA;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1501						zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	ymA;rG;mG;rA;mA;rG;mU; mU;rG;rA;mU;rC;mU;mU;r G;mG;rA;mG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1502						zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	ymA;rG;mG;rA;mA;rG;mU; mU;rG;rA;rU;mC;mU;mU;r G;mG;rA;mG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1505	16	22	17			zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	yrA;mG;rG;mA;rA;mG;rU; mU;rG;rA;mU;rC;mU;rU;m G;rG;mA;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1506						zc3p;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	ymA;rG;rG;rA;rA;rG;mU;m U;rG;rA;mU;mC;mU;mU;rG ;rG;rA;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1507						zc3p;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	ymA;rG;mG;rA;mA;rG;mU; mU;rG;rA;mU;rC;mU;mU;r G;mG;rA;mG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1508						zc3p;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	ymA;rG;mG;rA;mA;rG;mU; mU;rG;rA;rU;mC;mU;mU;r G;mG;rA;mG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1509	16					zc3p;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	ymA;rG;rG;rA;rA;rG;rU2p; mU;rG;rA;mU;rC;mU;mU;r G;mG;rA;mG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1510						zc3p;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	ymA;rG;rG;rA;rA;rG;LdT;m U;rG;rA;mU;rC;mU;mU;rG; mG;rA;mG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1511	8		27			zc3p;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p	yrA;mG;rG;mA;rA;mG;rU; mU;rG;rA;mU;rC;mU;rU;m G;rG;mA;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_45 _S1512						zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA; rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2 p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p;zc 3p\$	ymA;rG;rG;rA;rA;rG;mU;m U;rG;rA;mU;mC;mU;mU;rG ;rG;rA;rG;rU;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_45_S1513							zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p;z c3p\$	ymA;rG;mG;rA;mA;rG;mU;mU;rG;rA;mU;rC;mU;mU;rG;mG;rA;mG;rU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1514							zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p;z c3p\$	ymA;rG;mG;rA;mA;rG;mU;mU;rG;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mG;rA;mG;rU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1515							zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p;z c3p\$	ymA;rG;rG;rA;rA;rG;rU2p;mU;rG;rA;mU;rC;mU;mU;rG;mG;rA;mG;rU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1516							zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p;z c3p\$	ymA;rG;rG;rA;rA;rG;rU2p;mU;rG;rA;mU;rC;mU;mU;rG;mG;rA;mG;rU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1517	24	22	31	7	11	14	zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p;z c3p\$	yrA;mG;rG;mA;rA;mG;rU;mU;rG;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rG;mA;rG;mU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1518	8	90	47				zidB;rA;rC;rU;mC;mC;rA;rA;rG;rA;rU;mC;rA;rA;mC;mU;rU;rC;LdC;yrU\$	ymA;rG;rG;rA;rA;rG;mU;mU;rG;rA;mU;mC;mU;mU;rG;rG;rA;rG;rU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1523	3	17	30			16	zidB;rA;rC;rU;mC;mC;rA;rA;rG;rA;rU;mC;rA;rA;mC;mU;rU;rC;LdC;yrU\$	yrA;mG;rG;mA;rA;mG;rU;mU;rG;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rG;mA;rG;mU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1524							zidB;rA;rC;rU;rC;mC;rA;rA;rG;rA;rU;mC;rA;rA;rC;mU;rU;mC;mC;yrU;z c3p\$	ymA;rG;rG;rA;rA;rG;mU;mU;rG;rA;mU;mC;mU;mU;rG;rG;rA;rG;rU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1525							zidB;rA;rC;rU;rC;mC;rA;rA;rG;rA;rU;mC;rA;rA;rC;mU;rU;mC;mC;yrU;z c3p\$	ymA;rG;mG;rA;mA;rG;mU;mU;rG;rA;mU;rC;mU;mU;rG;mG;rA;mG;rU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1529	24	17	33				zidB;rA;rC;rU;rC;mC;rA;rA;rG;rA;rU;mC;rA;rA;rC;mU;rU;mC;mC;yrU;z c3p\$	yrA;mG;rG;mA;rA;mG;rU;mU;rG;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rG;mA;rG;mU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1684	24					14	zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p;z c3p\$	yrA;mG;rG;mA;rA;mG;rU2p;mU;rG;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rG;mA;rG;mU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1685	8					15	zidB;rA;rC;rU;mC;mC;rA;rA;rG;rA;rU;mC;rA;rA;mC;mU;rU;rC;LdC;yrU\$	yrA;mG;rG;mA;rA;mG;rU2p;mU;rG;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rG;mA;rG;mU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1781							zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2p;rU2p;rC2p;rC2p;yrU2p;z c3p\$	rU;rG;rG;mA;rA;mG;rU2p;mU;rG;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rG;mA;rG;mU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_45_S1786							zidB;rA;rC;rU;rC;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rC;rA;rA;rC;rU2p;rU2p;rC2p;rC2p;rA2p;z c3p\$	dU;rG;rG;mA;rA;mG;rU2p;mU;rG;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rG;mA;rG;mU;z c3p;z c3p\$
SERPINH1_51_S1356							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2	mU;rC;mA;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC

							p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	;rA;mG;rG;mA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1363							zc3p;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mA;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;rA;mG;rG;mA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1370							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;mA;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;rA;mG;rG;mA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1473							zc3p;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;mC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1474							zc3p;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1475							zc3p;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1476							zc3p;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1477							zc3p;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;rC;rA;mC;rC;LdC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1478							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;mC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1479							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1480							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1481							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1482							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p	mU;rC;rA;mC;rC;LdC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1483							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;mC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1484							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1485							zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_51_S1486						zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1487						zidB;rU;rC;rC;rU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC;rA;rU;rG;rG2p;rG2p;rU2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1488						zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU;rG;rA\$	mU;rC;mA;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;rA;mG;rG;mA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1489	8		25			zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU;rG;rA\$	mU;mC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1490						zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU;rG;rA\$	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1491						zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU;rG;rA\$	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1492						zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU;rG;rA\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1493						zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU;rG;rA\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1494						zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mA;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;rA;mG;rG;mA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1495						zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;mC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;mU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1496						zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;mU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1497						zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;mC;mC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1498	24	22		10	7	zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1499	24	25	31	18	28	zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1666						zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC2p;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1667						zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC2p;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1668	16				14	zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC2p;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;rU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$

							G;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	A;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1669	24					18	zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC2p;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;mG;rU;rC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1670	16					13	zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC2p;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mA;rC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1673	24					22	zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;rU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1674	16						zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;mG;rU;rC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1675	16					35	zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mA;rC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1676	10						zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU2p;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1677	10						zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU2p;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1678	10						zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU2p;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;rU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1679	10						zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU2p;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;mG;rU;rC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1680	10						zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;rU2p;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mA;rC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1682	8					16	zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;mG;rU;rC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1778							zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC2p;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	yrA;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;mG;rU;rC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1779							zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	yrA;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;mG;rU;rC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1783							zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC2p;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	dU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;mG;rU;rC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_S1784							zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	dU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;mG;rU;rC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1356							zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;rC;mG;rU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1363							zc3p;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2	mU;rC;mU;rC;mG;rU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU

						p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	;rU;mG;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1370						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;mU;rC;mG;rU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1552						zc3p;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1553						zc3p;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;rU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1554						zc3p;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1555						zc3p;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1556						zc3p;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;rU;LdC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1557						zc3p;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;rU;rC2p;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1558						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1559						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;rU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1560						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1561						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1562						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;rU;LdC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1563						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p	mU;rC;mU;mC;rG;rU;rC2p;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1564	16	94				zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1565						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;rU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_52_S1566						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1567						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1568						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;rU;LdC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1569						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rA2p;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;rU;rC2p;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1570						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;LdG;rA\$	mU;rC;mU;rC;mG;rU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1571						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;LdG;rA\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1572						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;LdG;rA\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;rU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1573						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;LdG;rA\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1574						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;LdG;rA\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1575						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;LdG;rA\$	mU;rC;mU;mC;rG;rU;LdC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1576						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;LdG;rA\$	mU;rC;mU;mC;rG;rU;rC2p;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1577						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mU;rC;mG;rU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1578						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;mU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1579						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;mC;rU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1580						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1581						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$

						mC;rG;rA;rG;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1582						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;rU;LdC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_52_S1583						zidB;rG;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;mC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mU;mC;rG;rU;rC2p;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_58_S1391						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p	rA;mC;rU;mC;rG;mU;rC;mU;rC;rG;mC;rA;mU;rC;mU;rU;mG;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_58_S1584						zidB;rG;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;rC2p;rG2p;rA2p;rG2p;rU2p	rA;mC;rU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;rA;rU;mC;mU;mU;rG;mU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1356	16	68	65			zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;mG;rU;mU;rG;mU;rA;mG;rA;mG;rG;mC;rC;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1363						zc3p;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;mG;rU;mU;rG;mU;rA;mG;rA;mG;rG;mC;rC;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1370						zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;mG;rU;mU;rG;mU;rA;mG;rA;mG;rG;mC;rC;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1530						zc3p;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1531		52	31			zc3p;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1532						zc3p;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;rG;rU;LdT;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1533	8	70	74			zc3p;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;rG;rU;rU2p;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1534						zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1535						zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1536						zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;rG;rU;LdT;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1537						zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p	mU;rG;mU;rA;rG;rU;rU2p;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1538						zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_86_S1539						zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1540						zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;rG;rU;LdT;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1541						zidB;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC2p;rU2p;rA2p;rC2p;rA2p;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;rG;rU;rU2p;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1542						zidB;rA;mC;rA;rG;rG;mC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;LdC;rA\$	mU;rG;mU;rA;mG;rU;mU;rG;mU;rA;mG;rA;mG;rG;mC;rC;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1543	8	44	42			zidB;rA;mC;rA;rG;rG;mC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;LdC;rA\$	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1544	8	29	36			zidB;rA;mC;rA;rG;rG;mC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;LdC;rA\$	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1545						zidB;rA;mC;rA;rG;rG;mC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;LdC;rA\$	mU;rG;mU;rA;rG;rU;LdT;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1546	16	67	63			zidB;rA;mC;rA;rG;rG;mC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;LdC;rA\$	mU;rG;mU;rA;rG;rU;rU2p;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1547	16	24	63			zidB;rA;mC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;mG;rU;mU;rG;mU;rA;mG;rA;mG;rG;mC;rC;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1548	16	39	67			zidB;rA;mC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1549	16	20	68			zidB;rA;mC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;rG;mU;mU;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;rC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1550	16	96	92			zidB;rA;mC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;rG;rU;LdT;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_86_S1551	16	70	51			zidB;rA;mC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;mU;rA;mC;rA;rA;rC;mU;rA;mC;rA;zc3p\$	mU;rG;mU;rA;rG;rU;rU2p;rG;mU;rA;rG;rA;rG;rG;mC;mC;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_S1686						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;rG;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_S1688						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;rG;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_S1689						zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;rG;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$

							p\$	
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;m	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1690							C;rA;rU;rG;rG;rG;mU;rG;r	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							C;mU;rA;mU;rA;zc3p;zc3	rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$
							p\$	
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;m	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;
S1691							C;rA;rU;rG;rG;rG;mU;rG;r	rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;m
							C;mU;rA;mU;rA;zc3p;zc3	G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
							p\$	
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;m	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1692							C;rA;rU2p;rG;rG;rG;mU;r	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;m	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1693							C;rA;rU2p;rG;rG;rG;mU;r	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1695							mC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1696							mC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;
S1697							mC;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;	rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;m
							rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1698							mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							G;rC;mU;rA;rU2p;rA;zc3p	rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
							\$	
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1699							mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							G;rC;mU;rA;rU2p;rA;zc3p	rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$
							\$	
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1701							mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							G;rC;mU;rA;LdT;rA;zc3p\$	rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1702							mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							G;rC;mU;rA;LdT;rA;zc3p\$	rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p;
S1703							mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r	rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;m
							G;rC;mU;rA;LdT;rA;zc3p\$	G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1704							;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p	rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;rC;rA;rC	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1706							;rA;rU;rG;rG;rG;rU;rG;rC2	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							p;rU2p;rA2p;rU2p;rA2p;zc	rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$
							3p\$	
SERPINH1_2_							zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA;	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r
S1708							mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r	C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG
							G;mC;mU;rA;LdT;rA\$	rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_2_ S1709						zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;mC;mU;rA;LdT;rA\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p; rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;m G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1710						zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;mA;r C;mC;rC;mA;rU;mG;rU;mG rU;mC;rU;rC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_2_ S1711						zidB;rG;rA;rG;rA;mC;rA; mC;rA;rU;rG;rG;rG;mU;r G;rC;mU;rA;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mU;rA;mG;rC;rA2p; rC;mC;rC;mA;rU;mG;rU;m G;rU;mC;rU;mC;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1712						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;r C;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1713						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;m C;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1714						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1715						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1716						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1717						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC; rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1718						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p;zc3 p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;r C;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1719						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p;zc3 p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;m C;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1720						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p;zc3 p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1721						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p;zc3 p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1722						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p;zc3 p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;m C;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1723						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC rG;rA;rG;LdT;rA;zc3p;zc3 p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p; rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC; rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1724						zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA; mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;r C;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC

							rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p\$	rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1725							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1726							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1727							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1728							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1729							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1730							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1731							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1732							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1733							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1734							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1735							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;rU2p;rA;zc3p;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1736							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1737							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1738							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_S1740							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$

SERPINH1_6_ S1742							zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1743							zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;mU;mC;rU;mC;rG;mC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1745							zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1747							zidB;rA;rC;rA;rA;rG;rA;rU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1748							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;LdT;rA\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1749							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;LdT;rA\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1750							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;LdT;rA\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1751							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1752							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;mG;rC;mA;rU;mC;rU;mU;rG;mU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_6_ S1753							zidB;rA;mC;rA;rA;rG;rA;mU;rG;rC;rG;rA;rG;rA;mC;rG;rA;rG;mU;rA;zc3p\$	mU;rA;mC;rU;mC;rG;rU2p;rC;mU;rC;rG;mC;mA;rU;rC;rU;mU;rG;rU;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_42_ S1354							rG;rA;rC;rA;rG;rG;rC;rC;rU;rC;rU;rA;rC;rA;rA;rC;rU;rA;yrU;zdT;zdT\$	yrA;rU;rA;rG;rU;rU;rG;rU;rA;rG;rA;rG;rC;rC;rU;rG;rU;rC;zdT;zdT\$
SERPINH1_51_ S1671							zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_ S1672							zidB;rU;rC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;LdC;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_ S1681							zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;rA;mC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;rU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$
SERPINH1_51_ S1683							zidB;rU;mC;rC;mU;rG;rA;rG;rA;rC;rA;mC;rA;mU;rG;rG;rG;mU;rG;rA;zc3p\$	mU;rC;mA;rC;rC;rC2p;rA;mU;rG;rU;rG;mU;mC;rU;mC;rA;rG;rG;rA;zc3p;zc3p\$

Tabla 7: Código de los restos nucleotídicos modificados/no convencionales como se usan en las Tablas de la presente memoria

5	Código	Descripción
	rA	3'-fosfato de riboadenosina, ácido 3'-adenílico
	rC	3'-fosfato de ribocitidina, ácido 3'-citidílico
	rG	3'-fosfato de riboguanosina, ácido 3'-guanílico
	rU	3'-fosfato de ribouridina, ácido 3'-uridílico

mA	3'-fosfato de 2'-O-metiladenosina, ácido 2'-O-metil-3'-adenílico
mC	3'-fosfato de 2'-O-metilcitidina, ácido 2'-O-metil-3'-citidílico
mG	3'-fosfato de 2'-O-metilguanosina, ácido 2'-O-metil-3'-guanílico
mU	3'-fosfato de 2'-O-metiluridina, ácido 2'-O-metil-3'-uridílico
dA	3'-fosfato de desoxirriboadenosina, ácido 2'-desoxirribo-3'-adenílico
dC	3'-fosfato de desoxirribocitidina, ácido 2'-desoxirribo-3'-citidílico
dG	3'-fosfato de desoxiguanosina, ácido 2'-desoxirribo-3'-guanílico
dT	3'-fosfato de timidina, ácido 3'-timidílico
rA2p	2'-fosfato de riboadenosina, ácido 2'-adenílico (2'-5' A)
rC2p	2'-fosfato de ribocitidina, ácido 2'-citidílico (2'-5' C)
rG2p	2'-fosfato de riboguanosina, ácido 2'-guanílico (2'-5' G)
rU2p	2'-fosfato de ribouridina, ácido 2'-uridílico (2'-5' U)
LdA	3'-fosfato de L-desoxirriboadenosina (imagen especular de dA)
LdC	3'-fosfato de L-desoxirribocitidina (imagen especular de dC)
LdG	3'-fosfato de L-desoxirriboguanosina (imagen especular de dG)
LdT	3'-fosfato de L-desoxirribotimidina (imagen especular de dT)
dB	3'-fosfato de desoxirribosa abásico, 3-fosfato de 1,2-didesoxi-D-ribofuranosa, 3-fosfato de 1,4,2-desoxi-D-ribitol
zidB	5'-fosfato de desoxirribosa abásico invertido, en 5'= 5'-5' idAb, en 3'= 3'-3' idAb
z	Prefijo para indicar un resto conectado covalentemente con el extremo 3' o el extremo 5'
psiU	Seudouridina
p	5'-fosfato
s	5'-fosforotiato
C3	C3 no nucleotídico
\$	Carece de un ligador 3' (usado junto con los nucleótidos anteriores en el extremo 3' de la secuencia)

Se dan a conocer los oligonucleótidos de ARN_{ic} útiles en la generación de moléculas de ARN bicatenarias en las Tablas A-18, A-19 y B-E siguientes.

5 Secuencia oligonucleotídica de SERPINH1 útil en la preparación de compuestos de ARN_{ic}

Tabla A-18:

Nombre	SEQ ID NO COD	Codificante (5' > 3')	SEQ ID NO AC	Anticodificante (5' > 3')	Inter-especie	Identidad con gi"32454740 humana
SERPINH1_2	60	GAGACACAUGGGUGCUAUA	127	UAUAGCACCCAUGUGUCUC	H, Rt, Rh, M, D	[1533-1551] (18/19)
SERPINH1_3	61	GGGAAGAUGCAGAAGAAGA	128	UCUUCUUCUGCAUCUCCCC	H, Rt, Rh, Rb	[1112-1130] (18/19)
SERPINH1_5	62	GAAGAAGGCUGUUGCCAUA	129	UAUGGCAACAGCCUUCUUC	H, Rt	[1123-1141] (18/19)
SERPINH1_6	63	ACAAGAUGCGAGACGAGUA	130	UACUCGUCUCGCAUCUUGU	H, Rt, Rh, M	[1464-1482] (18/19)
SERPINH1_7	64	GGACAACCGUGGCUUCAUA	131	UAUGAAGCCACGGUUGUCC	H, Rh, M	[886-904] (18/19)
SERPINH1_8	65	UGCAGUCCAUCAACGAGUA	132	UACUCGUUGAUGGACUGCA	H, Rt, Rh, M	[738-756] (18/19)
SERPINH1_9	66	GCCUCAUCAUCCUCAUGCA	133	UGCAUGAGGAUGAUGAGGC	H, Rt, Rh, M, D	[1026-1044] (18/19)
SERPINH1_10	67	CGCGCUGCAGUCCAUA AAA	134	UUUGAUGGACUGCAGCGCG	H, Rt, Rh, P	[733-751] (18/19)
SERPINH1_11	68	CGGACAGGCCUCUACAACA	135	UGUUGUAGAGGCCUGUCCG	H, Rt, Rh, P	[944-962] (18/19)
SERPINH1_13	69	UGACAAGAUGCGAGACGAA	136	UUCGUCUCGCAUCUUGUCA	H, Rh	[1462-1480] (18/19)
SERPINH1_14	70	CCAGCCUCAUCAUCCUCAA	137	UUGAGGAUGAUGAGGCUGG	H, M, Rt, Rh, D-	[1023-1041] (18/19)
SERPINH1_15	71	GCUGCAGUCCAUCAACGAA	138	UUCGUUGAUGGACUGCAGC	H, Rt, Rh	[736-754] (18/19)
SERPINH1_16	72	GCAGCGCGCUGCAGUCCAA	139	UUGGACUGCAGCGCGCUGC	H, Rt, Rh	[729-747] (18/19)
SERPINH1_17	73	UGAGACACAUGGGUGCUAA	140	UUAGCACCCAUGUGUCUCA	H, Rt, Rh, M, D	[1532-1550] (18/19)
SERPINH1_19	74	GGUGGAGGUGACCCAUGAA	141	UUCAUGGGUCACCUCCACC	H, Rt, Rh, M	[1159-1177] (18/19)
SERPINH1_20	75	CUUUGACCAGGACAUCUAA	142	UUAGAUGUCCUGGUCAAAG	H, Rt, Rh	[1324-1342] (18/19)
SERPINH1_21	76	GGAGGUGACCCAUGACCUA	143	UAGGUCAUGGGUCACCUCC	H, Rt, Rh, M, D	[1162-1180] (18/19)
SERPINH1_22	77	CUCCUGAGACACAUGGGUA	144	UACCCAUGUGUCUCAGGAG	H, D	[1528-1546] (18/19)
SERPINH1_23	78	AGAAGAAGGCUGUUGCCAA	145	UUGGCAACAGCCUUCUUCU	H, Rt	[1122-1140] (18/19)
SERPINH1_24	79	AGCUCUCCAGCCUCAUCAA	146	UUGAUGAGGCUGGAGAGCU	H, Rt, D, M, P, Rh	[1017-1035] (18/19)
SERPINH1_25	80	CUGCAGUCCAUCAACGAGA	147	UCUCGUUGAUGGACUGCAG	H, Rt, Rh, M	[737-755] (18/19)
SERPINH1_26	81	CCGGACAGGCCUCUACAAA	148	UUUGUAGAGGCCUGUCCGG	H, Rt, Rh, Rb, P	[943-961] (18/19)

SERPINH1_27	82	GCACCGGACAGGCCUCUAA	149	UUAGAGGCCUGUCCGGUGC	H, Rt, Rh, Rb, P	[940-958] (18/19)
SERPINH1_28	83	GCAGAAGAAGGCUGUUGCA	150	UGCAACAGCCUUCUUCUGC	H, Rt	[1120-1138] (18/19)
SERPINH1_31	84	AGAAGGCUGUUGCCAUCUA	151	UAGAUGGCAACAGCCUUCU	H, Rt	[1125-1143] (18/19)
SERPINH1_32	85	AGCGCAGCGCGCUGCAGUA	152	UACUGCAGCGCGCUGCGCU	H, Rt, Rh,	[726-744] (18/19)
SERPINH1_33	86	GACACAUGGGUGCUAUUGA	153	UCAAUAGCACCCAUGUGUC	H, Rt, Rh, M	[1535-1553] (18/19)
SERPINH1_34	87	GGGCCUGACUGAGGCCAUA	154	UAUGGCCUCAGUCAGGCC	H, Rt	[1201-1219] (18/19)
SERPINH1_35	88	AGACACAUGGGUGCUAUUA	155	UAAUAGCACCCAUGUGUCU	H, Rt, Rh, M	[1534-1552] (18/19)
SERPINH1_36	89	CCAUGACCUGCAGAAACAA	156	UUGUUUCUGCAGGUCAUGG	H, Rt, Rh, M	[1171-1189] (18/19)
SERPINH1_37	90	AGAUGCAGAAGAAGGCUGA	157	UCAGCCUUCUUCUGCAUCU	H, Rt, Rh, M	[1116-1134] (18/19)
SERPINH1_38	91	CAAGCUCUCCAGCCUCAUA	158	UAUGAGGCUGGAGAGCUUG	H, Rt, Rh, M, P, D	[1015-1033] (18/19)
SERPINH1_39	92	UGCAGAAGAAGGCUGUUGA	159	UCAACAGCCUUCUUCUGCA	H, Rt	[1119-1137] (18/19)
SERPINH1_41	93	CAGCCUCAUCAUCCUCAUA	160	UAUGAGGAUGAUGAGGCUG	H, Rt, Rh, M, D	[1024-1042] (18/19)
SERPINH1_42	94	GACAGGCCUCUACAACUAA	161	UUAGUUGUAGAGGCCUGUC	H, Rt, Rh, Rb, P	[946-964] (18/19)
SERPINH1_43	95	GAUGCAGAAGAAGGCUGUA	162	UACAGCCUUCUUCUGCAUC	H, Rt, Rh, M	[1117-1135] (18/19)
SERPINH1_44	96	ACCCAUGACCUGCAGAAAA	163	UUUUCUGCAGGUCAUGGGU	H, Rt, Rh, M	[1169-1187] (18/19)
SERPINH1_45	97	ACUCCAAGAUAACUCCA	164	UGGAAGUUGAUCUUGGAGU	H, Rt, Rh, M, D	[702-720] (18/19)
SERPINH1_45 _a	98	ACUCCAAGAUAACUCCU	165	AGGAAGUUGAUCUUGGAGU	H, Rt, Rh, M, D	[702-720] (18/19)
SERPINH1_48	99	AGGCCUCUACAACUACUAA	166	UUAGUAGUUGUAGAGGCCU	H, Rt, Rh, Rb, P, D	[949-967] (18/19)
SERPINH1_49	100	CACUCCAAGAUAACUUCA	167	UGAAGUUGAUCUUGGAGUG	H, Rt, Rh, M, D	[701-719] (18/19)
SERPINH1_51	101	UCCUGAGACACAUGGGUGA	168	UCACCCAUGUGUCUCAGGA	H, Rt, D, M	[1529-1547] (18/19)
SERPINH1_52	102	GACAAGAUGCGAGACGAGA	169	UCUCGUCUCGCAUCUUGUC	H, Rt, Rh,	[1463-1481] (18/19)
SERPINH1_53	103	GGUGACCCAUGACCUGCAA	170	UUGCAGGUCAUGGGUCACC	H, Rt, Rh, M	[1165-1183] (18/19)
SERPINH1_59	104	CCGAGGUGAAGAAACCUGA	171	UCAGGUUUCUUCACCUCGG	H, Rt, Rh,	[285-303] (18/19)
SERPINH1_51 _a	105	UCCUGAGACACAUGGGUGU	172	ACACCCAUGUGUCUCAGGA	H, Rt, D, M	[1529-1547] (18/19)
SERPINH1_61	106	GCACUCCAAGAUAACUUA	173	UAAGUUGAUCUUGGAGUGC	H, Rh, D	[700-718] (18/19)
SERPINH1_62	107	GUGGUGGAGGUGACCCAUA	174	UAUGGGUCACCUCACCAC	H, Rt, Rh, M, Rb	[1157-1175] (18/19)
SERPINH1_64	108	GCCGAGGUGAAGAAACCUA	175	UAGGUUUCUUCACCUCGGC	H, Rt, Rh,	[284-302] (18/19)
SERPINH1_65	109	GCUCUCCAGCCUCAUCAUA	176	UAUGAUGAGGCUGGAGAGC	H, Rt, D, M, P, Rh	[1018-1036] (18/19)
SERPINH1_66	110	GAUGCACCGGACAGGCCUA	177	UAGGCCUGUCCGGUGCAUC	H, Rt, Rh, M, Rb, P	[937-955] (18/19)

SERPINH1_68	111	CUCUCCAGCCUCAUCAUCA	178	UGAUGAUGAGGCUGGAGAG	H, Rt, D, M, P, Rh	[1019-1037] (18/19)
SERPINH1_69	112	GCAGACCACCGACGGCAAA	179	UUUGCCGUCGGUGGUCUGC	H, Rt, D	[763-781] (18/19)
SERPINH1_70	113	AGUCCAUCAACGAGUGGGA	180	UCCACUCGUUGAUGGACU	H, Rt, Rh, M	[741-759] (18/19)
SERPINH1_71	114	ACCGUGGCUUCAUGGUGAA	181	UUCACCAUGAAGCCACGGU	H, Rt, Rh, M	[891-909] (18/19)
SERPINH1_74	115	GAAGGCUGUUGCCAUCUCA	182	UGAGAUGGCAACAGCCUUC	H, Rt,	[1126-1144] (18/19)
SERPINH1_75	116	GAAGAUGCAGAAGAAGGCA	183	UGCCUUCUUCUGCAUCUUC	H, Rt, Rh, Rb	[1114-1132] (18/19)
SERPINH1_77	117	UGAUGAUGCACCGGACAGA	184	UCUGUCCGGUGCAUCAUCA	H, Rh,	[933-951] (18/19)
SERPINH1_78	118	CCCUUUGACCAGGACAUCA	185	UGAUGUCCUGGUCAAAGGG	H, Rt, Rh,	[1322-1340] (18/19)
SERPINH1_80	119	CAGUCCAUCAACGAGUGGA	186	UCCACUCGUUGAUGGACUG	H, Rt, Rh, M	[740-758] (18/19)
SERPINH1_82	120	CAACCGUGGCUUCAUGGUA	187	UACCAUGAAGCCACGGUUG	H, Rt, Rh, M	[889-907] (18/19)
SERPINH1_83	121	CGACAAGCGCAGCGCGCUA	188	UAGCGCGCUGCGCUUGUCG	H	[721-739] (18/19)
SERPINH1_84	122	GCAGUCCAUCAACGAGUGA	189	UCACUCGUUGAUGGACUGC	H, Rt, Rh, M	[739-757] (18/19)
SERPINH1_86	123	ACAGGCCUCUACAACUACA	190	UGUAGUUGUAGAGGCCUGU	H, Rt, Rh, Rb, P, D	[947-965] (18/19)
SERPINH1_87	124	AAGAUGCAGAAGAAGGCUA	191	UAGCCUUCUUCUGCAUCUU	H, Rt, Rh, M	[1115-1133] (18/19)
SERPINH1_89	125	CAGCGCGCUGCAGUCCAUA	192	UAUGGACUGCAGCGCGCUG	H, Rt, Rh,	[730-748] (18/19)
SERPINH1_90	126	GCGCAGCGCGCUGCAGUCA	193	UGACUGCAGCGCGCUGCGC	H, Rt, Rh,	[727-745] (18/19)

Tabla A-18. Selección de ARNic

ARNic	SEQ ID COD	SEQ ID AC	Actividad 0,1 nM	Actividad 0,5 nM	Actividad 5 nM	CI50 (nM)	Longitud
SERPINH1_2	60	127	65	48	7	.008	19
SERPINH1_6	63	130	164	39	5	.019	19
SERPINH1_11	68	135	119	54	6	.05	19
SERPINH1_13	69	136	91	24	4		19
SERPINH1_45	97	164	156	38	8	.07	19
SERPINH1_45a	98	165					19
SERPINH1_51	101	168	68	39	5	.05	19
SERPINH1_52	102	169	149	37	9	0.06	19
SERPINH1_86	123	190	121	61		0.27	19

ARNic	SEQ ID COD	SEQ ID AC	Actividad 0,026 nM	Actividad 0,077 nM	Actividad 0,23 nM	Actividad 0,69 nM	Actividad 2,1 nM	Actividad 6,25 nM	Actividad 25 nM
SERPINH1_45	97	164	102	81	55	41	28	22	16
SERPINH1_45a	98	165	107	98	84	69	36	24	16

Tabla A-19:

Nombre	SEQ ID NO COD	Codificante (5' > 3')	SEQ ID NO AC	Anticodificante (5' > 3')	Especie	L	Identidad con gi32454740 humana
SERPINH1_1	194	GGACAGGCCUCUACAACUA	219	UAGUUGUAGAGGCCUGUCC	H, Rt, Rh, Rb, P	19	[945-963] (19/19)
SERPINH1_4	195	GAGACACAUGGGUGCUAUU	220	AAUAGCACCCAUGUGUCUC	H, Rt, Rh, M, D	19	[1533-1551] (19/19)
SERPINH1_12	196	ACAAGAUGCGAGACGAGUU	221	AACUCGUCUCGCAUCUUGU	H, Rt, Rh,	19	[1464-1482] (19/19)
SERPINH1_18	197	CCUUUGACCAGGACAUCUA	222	UAGAUGUCCUGGUCAAAGG	H, Rt, Rh,	19	[1323-1341] (19/19)
SERPINH1_29	198	GACCCAUGACCUGCAGAAA	223	UUUCUGCAGGUCAUGGGUC	H, Rt, Rh, M	19	[1168-1186] (19/19)
SERPINH1_30	199	CGGACAGGCCUCUACAACU	224	AGUUGUAGAGGCCUGUCCG	H, Rt, Rh, Rb, P	19	[944-962] (19/19)
SERPINH1_40	200	ACCGGACAGGCCUCUACAA	225	UUGUAGAGGCCUGUCCGGU	H, Rt, Rh, Rb, P	19	[942-960] (19/19)
SERPINH1_46	201	GCAGCGCGCUGCAGUCCAU	226	AUGGACUGCAGCGCGCUGC	H, Rt, Rh,	19	[729-747] (19/19)
SERPINH1_47	202	GCGCGCUGCAGUCCAUCAA	227	UUGAUGGACUGCAGCGCGC	H, Rt, Rh,	19	[732-750] (19/19)
SERPINH1_50	203	CUGAGACACAUGGGUGCUA	228	UAGCACCCAUGUGUCUCAG	H, Rt, Rh, M, D	19	[1531-1549] (19/19)
SERPINH1_54	204	AGAAGAAGGCUGUUGCCAU	229	AUGGCAACAGCCUUCUUCU	H, Rt	19	[1122-1140] (19/19)
SERPINH1_55	205	AGCUCUCCAGCCUCAUCAU	230	AUGAUGAGGCUGGAGAGCU	H, Rt, D, M, P, Rh	19	[1017-1035] (19/19)
SERPINH1_56	206	CUGCAGUCCAUCAACGAGU	231	ACUCGUUGAUGGACUGCAG	H, Rt, Rh, M	19	[737-755] (19/19)
SERPINH1_57	207	CGCUGCAGUCCAUCAACGA	232	UCGUUGAUGGACUGCAGCG	H, Rt, Rh,	19	[735-753] (19/19)
SERPINH1_58	208	GACAAGAUGCGAGACGAGU	233	ACUCGUCUCGCAUCUUGUC	H, Rt, Rh,	19	[1463-1481] (19/19)
SERPINH1_63	209	GGGCCUGACUGAGGCCAUU	234	AAUGGCCUCAGUCAGGCC	H, Rt	19	[1201-1219] (19/19)
SERPINH1_67	210	GAUGCAGAAGAAGGCUGUU	235	AACAGCCUUCUUCUGCAUC	H, Rt, Rh, M	19	[1117-1135] (19/19)
SERPINH1_72	211	CACCGGACAGGCCUCUACA	236	UGUAGAGGCCUGUCCGGUG	H, Rt, Rh, Rb, P	19	[941-959] (19/19)
SERPINH1_73	212	AGAUGCAGAAGAAGGCUGU	237	ACAGCCUUCUUCUGCAUCU	H, Rt, Rh, M	19	[1116-1134] (19/19)
SERPINH1_76	213	AGCGCGCUGCAGUCCAUC	238	UGAUGGACUGCAGCGCGCU	H, Rt, Rh	19	[731-749] (19/19)
SERPINH1_79	214	GGAAGAUGCAGAAGAAGGC	239	GCCUUCUUCUGCAUCUCC	H, Rt, Rh, Rb	19	[1113-1131] (19/19)
SERPINH1_81	215	GAAGAAGGCUGUUGCCAUC	240	GAUGGCAACAGCCUUCUUC	H, Rt	19	[1123-1141] (19/19)
SERPINH1_85	216	UGCAGUCCAUCAACGAGUG	241	CACUCGUUGAUGGACUGCA	H, Rt, Rh, M	19	[738-756] (19/19)
SERPINH1_88	217	CCUGAGACACAUGGGUGCU	242	AGCACCCAUGUGUCUCAGG	H, Rt, D,	19	[1530-1548]
					M		(19/19)
SERPINH1_91	218	CGCAGCGCGCUGCAGUCCA	243	UGGACUGCAGCGCGCUGCG	H, Rt, Rh,	19	[728-746] (19/19)

Tabla A-19. Selección de ARNic

ARNic	SEQ ID NO COD	SEQ ID NO AC	Actividad 0,1 nM	Actividad 0,5 nM	Actividad 5 nM	CI50 (nM)	Longitud
SERPINH1_4	195	220	60	35	5	.006	19
SERPINH1_12	196	221	54	42	8	.065	19
SERPINH1_18	197	222	139	43	9		19
SERPINH1_30	199	224	146	49	9	0.093	19
SERPINH1_58	208	233	na	na	8		19
SERPINH1_88	217	242	105	43	9		19

5 Tabla B: ARNic de SERPINH1 de 19 unidades activos adicionales

No	SEQ ID COD	ARNic codificante	SEQ ID AC	ARNic anticodificante	Otros	humano
1	244	GGCAGACUCUGGUCAAGAA	460	UUCUUGACCAGAGUCUGCC	Rh	[2009-2027]
2	245	CAGUGAGGCGGAUUGAGAA	461	UUCUCAAUCCGCCUCACUG		[1967-1985]
3	246	AGCCUUUGUUGCUAUCAAU	462	AUUGAUAGCAACAAAGGCU	Rh	[2117-2135]
4	247	CCAUGUUCUUAAGCCACA	463	UGUGGCUUGAAGAACAUGG	Rh,Rb,D	[837-855]
5	248	CCCUCUUCUGACACUAAAA	464	UUUUAGUGUCAGAAGAGGG		[1850-1868]
6	249	CCUCAAUACUGAUUUAU	465	AUAUGAAUACUGAUUGAGG		[1774-1792]
7	250	GAGACACAUGGGUGCUAUU	466	AAUAGCACCCAUGUGUCUC	Rh,D,Rt,M	[1533-1551]
8	251	GUGACAAGAUGCGAGACGA	467	UCGUCUCGCAUCUUGUCAC	Rh	[1461-1479]
9	252	GCCACACUGGGAUGAGAAA	468	UUUCUCAUCCAGUGUGGC	Rh,Rb,M	[850-868]
10	253	AGAUGCGAGACGAGUUAUA	469	UAUAACUCGUCUCGCAUCU	Rh	[1467-1485]
11	254	ACGACGACGAGAAGGAAAA	470	UUUUCUUCUCGUCGUCGU		[966-984]
12	255	GCCUCUACAACUACUACGA	471	UCGUAGUAGUUGUAGAGGC	Rb,D	[951-969]
13	256	AGAUAACUCCGCGACAA	472	UUGUCGCGGAAGUUGAUCU	D	[708-726]
14	257	ACUACUACGACGACGAGAA	473	UUCUCGUCGUCGUAGUAGU	Rb	[960-978]
15	258	AGCCUCUUCUGACACUAA	474	UUAGUGUCAGAAGAGGGCU		[1848-1866]
16	259	ACAAGAUGCGAGACGAGUU	475	AACUCGUCUCGCAUCUUGU	Rh,Rt	[1464-1482]
17	260	AGCCACACUGGGAUGAGAA	476	UUCUCAUCCAGUGUGGCU	Rh,Rb,M	[849-867]
18	261	AGGACCAGGCAGUGGAGAA	477	UUCUCCACUGCCUGGUCCU	Rh	[408-426]
19	262	CAGGCAAGAAGGACCUGUA	478	UACAGGUCCUUCUUGCCUG	Rh,D	[1251-1269]
20	263	ACCUGUGAGACCAAAUUGA	479	UCAAUUUGGUCUCACAGGU	Rh	[1813-1831]
21	264	CUUUGUUGCUAUCAAUCCA	480	UGGAUUGAUAGCAACAAAG	Rh	[2120-2138]
22	265	GUGAGACCAAAUUGAGCUA	481	UAGCUCAAUUUGGUCUCAC	Rh	[1817-1835]
23	266	CCCUGAAAGUCCAGAUCA	482	UGAUCUGGGACUUUCAGGG		[1749-1767]
24	267	CCUUGACCAGGACAUCUA	483	UAGAUGUCCUGGUCAAAGG	Rh,Rt	[1323-1341]
25	268	GACCAGGCGAGUGGAGACA	484	UGUUCUCCACUGCCUGGUC	Rh	[410-428]
26	269	CGCGCAACGUGACCGGAA	485	UUCAGGUCACGUUGCGCG	M	[597-615]
27	270	AUGAGAAAUCCACCACAA	486	UUGUGGUGGAAUUUCUCAU	Rh	[861-879]
28	271	GAAGAAACCUGCAGCCGCA	487	UGCGGUCGAGGUUUCUUC		[292-310]

29	272	CUCUCGAGCGCCUUGAAAA	488	UUUUCAAGGCGCUCGAGAG		[1059-1077]
30	273	GGAACAUGAGCCUUGUUG	489	CAACAAAGGCUCAUGUUC	Rh	[2109-2127]
31	274	CUCACCUGUGAGACCAAAU	490	AUUUGGUCUCACAGGUGAG	Rh	[1810-1828]
32	275	CUACGACGACGAGAAGGAA	491	UUCUUCUCGUCGUCGUAG	Rb	[964-982]
33	276	ACCACAAGAUGGUGGACAA	492	UUGUCCACCAUCUUGUGGU	Rh,Rb,M,P	[873-891]
34	277	CUGGCACUGCGGAGAAGUU	493	AACUUCUCCGAGUGCCAG		[318-336]
35	278	GGUCCUAUACCGUGGGUGU	494	ACACCCACGGUAUAGGACC	Rh	[912-930]
36	279	CCAACCUCUCCCAACUAUA	495	UAUAGUUGGAGAGGUUGG	Rh	[1896-1914]
37	280	GAGAAGGAAAAGCUGCAAA	496	UUUGCAGCUUUUCCUUCUC	Rh	[974-992]
38	281	GCCUCUCGAGCGCCUUGAA	497	UUCAAGGCGCUCGAGAGGC		[1057-1075]
39	282	AGGCCAUUGACAAGAACAA	498	UUGUUCUUGUCAUUGGCCU	Rh,D	[1212-1230]
40	283	GACCCAUGACCUGCAGAAA	499	UUUCUGCAGGUCAUGGGUC	Rh,Rt,M	[1168-1186]
41	284	CUCUGGCACUGCGGAGAA	500	UUCUCCGAGUGCCAGGAG		[315-333]
42	285	CGGACAGGCCUCUACAACU	501	AGUUGUAGAGGCCUGUCCG	Rh,Rb,Rt,P	[944-962]
43	286	GAUGAGAAAUCCACCACA	502	UGUGGUGGAAUUCUCAUC	Rh	[860-878]
44	287	CACGCAUGUCAGGCAAGAA	503	UUCUUGCCUGACAUGCGUG	Rh,D	[1242-1260]
45	288	ACCUCUCCCAACUAUAAAA	504	UUUUUAUAGUUGGAGAGGU	Rh	[1899-1917]
46	289	ACCAGGCAGUGGAGAACA	505	AUGUUCUCCACUGCCUGGU	Rh	[411-429]
47	290	GGGAACAUGAGCCUUGUU	506	AACAAAGGCUCAUGUCCC	Rh	[2108-2126]
48	291	AGAAUUCACUCCACUUGGA	507	UCCAAGUGGAGUGAAUUCU	Rh	[1653-1671]
49	292	GGGCAGACUCUGGUCAAGA	508	UCUUGACCAGAGUCUGCCC	Rh	[2008-2026]
50	293	AGAAGGAAAAGCUGCAAAU	509	AUUUGCAGCUUUUCCUUCU	Rh	[975-993]
51	294	GGCAGUGGAGAACAUCUG	510	CAGGAUGUUCUCCACUGCC	Rh	[415-433]
52	295	GGGAUGAGAAAUCCACCA	511	UGGUGGAAUUCUCAUCCC	Rh	[858-876]
53	296	CCAAGCUGUUCUACGCCGA	512	UCGGCGUAGAACAGCUUGG	Rh	[1365-1383]
54	297	ACCGGACAGGCCUCUACAA	513	UUGUAGAGGCCUGUCCGGU	Rh,Rb,Rt,P	[942-960]
55	298	CUGCCUCAAUCAGUAUUA	514	UGAAUACUGAUUGAGGCAG		[1771-1789]
56	299	CAGCCUCUUCUGACACUA	515	UAGUGUCAGAAGAGGGCUG		[1847-1865]
57	300	CCAGCCUCAUCAUCCUCAU	516	AUGAGGAUGAUGAGGCUGG	Rh,D,Rt,M	[1023-1041]
58	301	AGGGUGACAAGAUGCGAGA	517	UCUCGCAUCUUGUACCCU	Rh,D	[1458-1476]
59	302	GGACCAGGCAGUGGAGAAC	518	GUUCUCCACUGCCUGGUCC	Rh	[409-427]
60	303	GCAGCGCGCUGCAGUCCAU	519	AUGGACUGCAGCGCGCUGC	Rh,Rt	[729-747]
61	304	GCGCGCUGCAGUCCAUA	520	UUGAUGGACUGCAGCGCGC	Rh,Rt	[732-750]
62	305	CCAGAUACCAUGAUGCUGA	521	UCAGCAUCAUGGUAUCUGG	Rh	[1680-1698]
63	306	CUAGUGCGGGACACCCAAA	522	UUUGGGUGUCCCGCACUAG		[1400-1418]
64	307	AGGCAGUGGAGAACAUCU	523	AGGAUGUUCUCCACUGCCU	Rh	[414-432]
65	308	CUGAGACACAUGGGUGCUA	524	UAGCACCCAUGUGUCUCAG	Rh,D,Rt,M	[1531-1549]
66	309	GAUUGAGAAGGAGCUCCA	525	UGGGAGCUCCUUCUCAAUC		[1977-1995]
67	310	CGCAGACCACCGACGGCAA	526	UUGCCGUCGGUGGUCUGCG	D,Rt	[762-780]
68	311	CCACACUGGGAUGAGAAAU	527	AUUUCUCAUCCAGUGUGG	Rh	[851-869]
69	312	GCUCAGUGAGCUUCGCUGA	528	UCAGCGAAGCUCACUGAGC		[642-660]
70	313	CGCCUUGAGUUGGACACA	529	UGUGUCCAACUCAAAGGCG	Rh	[1294-1312]
71	314	GGGUCAGCCAGCCUCUUC	530	GAAGAGGGCUGGCUGACCC	Rh	[1839-1857]
72	315	GGGCUUCUGGGCAGACUCU	531	AGAGUCUGCCAGAAGCCC	Rh	[2000-2018]
73	316	GGUACCUUCUACCUUGUGA	532	UCACAGGUGAGAAGGUACC	Rh	[1802-1820]
74	317	GCCUGCCUCAAUCAGUAUU	533	AAUACUGAUUGAGGCAGGC		[1769-1787]

75	318	UCUACAACUACUACGACGA	534	UCGUCGUAGUAGUUGUAGA	Rb	[954-972]
76	319	GGGAAGAUGCAGAAAGAAGG	535	CCUUCUUCUGCAUCUUCUCC	Rh,Rb,Rt	[1112-1130]
77	320	CGAGAAGGAAAAGCUGCAA	536	UUGCAGCUUUUCCUUCUCG	Rh	[973-991]
78	321	AGAAGAAGGCUGUUGCCAU	537	AUGGCAACAGCCUUCUUCU	Rt	[1122-1140]
79	322	CACAAGCUCUCCAGCCUCA	538	UGAGGCUUGGAGAGCUUGUG	Rh,D,M,P	[1013-1031]
80	323	GGGUGACAAGAUGCAGAGAC	539	GUCUCGCAUCUUGUCACCC	Rh,D	[1459-1477]
81	324	UGUUGGAGCGUGGAAAAAA	540	UUUUUCCACGCUCCAACA		[2190-2208]
82	325	CUUUGAGUUGGACACAGAU	541	AUCUGUGUCCAACUCAAAAG	Rh	[1297-1315]
83	326	AGCUCUCCAGCCUCAUCAU	542	AUGAUGAGGCUGGAGAGCU	Rh,D,Rt,M	[1017-1035]
84	327	AGCUGUUCUACGCCGACCA	543	UGGUCGGCGUAGAACAGCU	Rh	[1368-1386]
85	328	CUGCAGUCCAUAACGAGU	544	ACUCGUUGAUGGACUGCAG	Rh,Rt,M	[737-755]
86	329	UACGACGACGAGAAGGAAA	545	UUUCCUUCUCGUCGUCGUA		[965-983]
87	330	CCUAGUGCGGGACACCCAA	546	UUGGGUGUCCCGCACUAGG		[1399-1417]
88	331	CUUCUCACCUGUGAGACCA	547	UGGUCUCACAGGUGAGAAG	Rh	[1807-1825]
89	332	AGUUGGACACAGAUGGCAA	548	UUGCCAUCUGUGUCCAACU		[1302-1320]
90	333	CAGUGGAGAAAUUACUCCA	549	ACCAGGAUGUUCUCCACUG	Rh	[417-435]
91	334	CCAGCUAGAAUUCACUCCA	550	UGGAGUGAAUUCUAGCUGG	Rh	[1647-1665]
92	335	CGCUGCAGUCCAUAACGA	551	UCGUUGAUGGACUGCAGCG	Rh,Rt	[735-753]
93	336	CCAAGGACCAGGCAGUGGA	552	UCCACUGCCUGGUCCUUGG	Rh	[405-423]
94	337	AGUUCUCAAAGAUAGGGA	553	UCCCUAUCUUUGAAGAACU		[2082-2100]
95	338	CGGACCUUCCAGCUAGAA	554	UUCUAGCUGGGAAGGUCCG	Rh	[1638-1656]
96	339	GACAAGAUGCAGAGACGAGU	555	ACUCGUCUCGCAUCUUGUC	Rh,Rt	[1463-1481]
97	340	CCAAGAUAACUUCGCGA	556	UCGCGGAAGUUGAUCUUGG	D	[705-723]
98	341	CCAUCACGUGGAGCCUCU	557	AGAGGCUCCACGUGAUGGG	Rh	[1044-1062]
99	342	CCAUGAUGCUGAGCCCGGA	558	UCCGGGCUCAGCAUCAUGG		[1687-1705]
100	343	AGCCUGCCUCAAUCAGUAU	559	AUACUGAUUGAGGCAGGCU		[1768-1786]
101	344	CGGCCUAAGGGUGACAAGA	560	UCUUGUCACCCUUAAGGCCG	Rh	[1451-1469]
102	345	GGGCCUGACUGAGGCCAUU	561	AAUGGCCUCAGUCAGGCC	Rt	[1201-1219]
103	346	UCACCUGUGAGACCAAAU	562	AAUUUGGUCUCACAGGUGA	Rh	[1811-1829]
104	347	GAGGCCAUUGACAAGAACA	563	UGUUCUUGUCAAUUGGCCUC	Rh,D	[1211-1229]
105	348	GCUCCUGGCACUGCGGAGA	564	UCUCCGCAGUGCCAGGAGC		[314-332]
106	349	GGCGCCUGGUCCGGCCUA	565	UUAGGCCGACCAGGCCGCC	Rh	[1440-1458]
107	350	CCAGCCCUCUUCUGACACU	566	AGUGUCAGAAGAGGGCUGG		[1846-1864]
108	351	ACUACGACGACGAGAAGGA	567	UCCUUCUCGUCGUCGUAGU	Rb	[963-981]
109	352	CCUAUACCGUGGGUGUCAU	568	AUGACACCCACGGUAUAGG	Rh,D,P	[915-933]
110	353	GACCCAGCUCAGUGAGCUU	569	AAGCUCACUGAGCUGGGUC		[636-654]
111	354	UGGGUGUCAUGAUGAUGCA	570	UGCAUCAUCAUGACACCCA	Rh	[924-942]
112	355	CCAAGGGUGUGGUGGAGGU	571	ACCUCCACCACACCCUUGG	Rh,D	[1149-1167]
113	356	AGGUCACCAAGGACGUGGA	572	UCCACGUCCUUGGUGACCU	Rh,D	[789-807]
114	357	CCCUGGCCGCCGAGGUGAA	573	UUCACCUCGGCGGCCAGGG		[276-294]
115	358	AGCACUCCAAGAUAACUU	574	AAGUUGAUCUUGGAGUGCU	Rh,D	[699-717]
116	359	CCUGGCACUGCGGAGAAGU	575	ACUUCUCCGACUGCCAGG		[317-335]
117	360	GAUGCAGAAAGGCUGUU	576	AACAGCCUUCUUCUGCAUC	Rh,Rt,M	[1117-1135]
118	361	CCCACAAGCUCUCCAGCCU	577	AGGCUUGGAGAGCUUGUGG	Rh,D,P	[1011-1029]
119	362	CUCUUCUGACACUAAAAA	578	UGUUUUAGUGUCAGAAGAG		[1852-1870]
120	363	ACGAGAAGGAAAAGCUGCA	579	UGCAGCUUUCCUUCUCGU	Rh	[972-990]

121	364	UGAAAAGCUGCUAACCAAA	580	UUUGGUUAGCAGCUUUUCA		[1072-1090]
122	365	UCUCACCUGUGAGACCAAA	581	UUUGGUCUCACAGGUGAGA	Rh	[1809-1827]
123	366	CAUGAUGAUGCACCGGACA	582	UGUCCGGUGCAUCAUCAUG	Rh	[931-949]
124	367	GGAUUGAGAAGGAGCUCOC	583	GGGAGCUCUUCUCAAUCC		[1976-1994]
125	368	CCUUAUCUUCUAGUGCG	584	CGCACUAGGAAGAUGAAGG		[1389-1407]
126	369	GGCCUGGCCUUCAGCUUGU	585	ACAAGCUGAAGGCCAGGCC		[374-392]
127	370	GGUCAGCCAGCCCUUCUCU	586	AGAAGAGGGCUGGCUGACC	Rh	[1840-1858]
128	371	UUCUCACCUGUGAGACCAA	587	UUGGUCUCACAGGUGAGAA	Rh	[1808-1826]
129	372	CGCAGCAGCUCUGGCACU	588	AGUGCCAGGAGCUGCUGCG		[307-325]
130	373	GCCAUGUUCUUAAGCCAC	589	GUGGCUUGAAGAACAUGGC	Rh,Rb,D	[836-854]
131	374	AGGCAGUGCUGAGCGCCGA	590	UCGGCGCUCAGCACUGCCU		[510-528]
132	375	CACCUGUGAGACCAAAUUG	591	CAAUUUGGUCUCACAGGUG	Rh	[1812-1830]
133	376	CACCGGACAGGCCUCUACA	592	UGUAGAGGCCUGUCCGGUG	Rh,Rb,Rt,P	[941-959]
134	377	AGCUAGAAUUCACUCCACU	593	AGUGGAGUGAAUUCUAGCU	Rh	[1649-1667]
135	378	AGAUGCAGAAGAAGGCUGU	594	ACAGCCUUCUUCUGCAUCU	Rh,Rt,M	[1116-1134]
136	379	CCCUGCUAGUCAACGCCAU	595	AUGGCGUUGACUAGCAGGG	Rh	[822-840]
137	380	ACAACUACUACGACGACGA	596	UCGUCGUCGUAGUAGUUGU	Rb	[957-975]
138	381	GCUCUGAGACACAUGGGU	597	ACCCAUGUGUCUCAGGAGC	D	[1527-1545]
139	382	UGGAGAACAUCUGGUGUC	598	GACACCAGGAUGUUCUCCA	Rh	[420-438]
140	383	AGCGCGCUGCAGUCCAUCU	599	UGAUGGACUCGACGCGCU	Rh,Rt	[731-749]
141	384	CGCCUUGAAAAGCUGCUAA	600	UUAGCAGCUUUUCAAGGCG		[1067-1085]
142	385	GCCUUUGUUGCUAUAUUC	601	GAUUGAUAGCAACAAAGGC	Rh	[2118-2136]
143	386	CUCUACAACUACGACG	602	CGUCGUAGUAGUUGUAGAG	Rb	[953-971]
144	387	CGCUCACUCAGCAACUCCA	603	UGGAGUUGCUGAGUGAGCG	Rh	[575-593]
145	388	GGUACCAGCCUUGGAUACU	604	AGUAUCCAAGGCUGGUACC	Rh	[1571-1589]
146	389	GCCUGACUGAGGCCAUUGA	605	UCAAUUGGCCUCAGUCAGGC	Rh	[1203-1221]
147	390	UGAGCUUCGCUGAUGACUU	606	AAGUCAUCAGCGAAGCUCA	Rh	[648-666]
148	391	CCAGCCUUGGAUACUCCA	607	AUGGAGUAUCCAAGGCUGG	Rh	[1575-1593]
149	392	AAAGGCUCUGAGACACAU	608	AUGUGUCUCAGGAGCCUUU		[1523-1541]
150	393	UGACCCAUGACCUGCAGAA	609	UUCUGCAGGUCUAGGGUCA	Rh,Rt,M	[1167-1185]
151	394	CCUGUGAGACCAAAUUGAG	610	CUCAAUUUGGUCUCACAGG	Rh	[1814-1832]
152	395	GCGGACCUUCCAGCUAGA	611	UCUAGCUGGGAAGGUCCGC	Rh	[1637-1655]
153	396	GGAAGAUGCAGAAGAAGGC	612	GCCUUCUUCUGCAUCUUC	Rh,Rb,Rt	[1113-1131]
154	397	UGCCCAAGGGUGUGGUGGA	613	UCCACCACACCUUGGGCA	Rh,D	[1146-1164]
155	398	GGAGCCUCUCGAGCGCCUU	614	AAGGCGCUCGAGAGGCUC		[1054-1072]
156	399	GACUCUGGUCAAGAAGCAU	615	AUGCUUCUUGACCAGAGUC	Rh	[2013-2031]
157	400	CAGGCAGUGGAGAACAUC	616	GGAUGUUCUCCACUGCCUG	Rh	[413-431]
158	401	CAAGCCUGCCUCAAUACAGU	617	ACUGAUUGAGGCAGGCUUG	Rh	[1766-1784]
159	402	CUGGAAGCUGGGCAGCCGA	618	UCGGCUGCCCAGCUCCAG		[610-628]
160	403	GAAGAAGGCUGUUGCCAUC	619	GAUGGCAACAGCCUUCUUC	Rt	[1123-1141]
161	404	GGGCGAGCUGCUGCGCUCA	620	UGAGCGCAGCAGCUGCCC	Rh	[562-580]
162	405	AAGCCACACUGGGAUGAGA	621	UCUCAUCCAGUGUGGCUU	Rh,Rb,M	[848-866]
163	406	GUGUGGUGGAGGUGACCCA	622	UGGGUACCUCCACCACAC	Rh,D	[1155-1173]
164	407	CCGCCUUUGAGUUGGACAC	623	GUGUCCAACUCAAGGCGG	Rh	[1293-1311]
165	408	GGCCAUUGACAAGAACAAG	624	CUUGUUCUUGUCAUUGGCC	Rh,D	[1213-1231]
166	409	UGCCUCAAUCAUAUUAU	625	AUGAAUACUGAUUGAGGCA		[1772-1790]

167	410	CCUUCCCAGCUAGAAUUCA	626	UGAAUUCUAGCUGGGAAGG	Rh	[1642-1660]
168	411	GGGACCUGGGCCAUGUCA	627	UGACUAUGGCCCAGGUCCC		[1721-1739]
169	412	CGAGGUGAAGAAACCUGCA	628	UGCAGGUUUCUUCACCUCG	Rh	[286-304]
170	413	GCCUUUGAGUUGGACACAG	629	CUGUGUCCAACUCAAAGGC	Rh	[1295-1313]
171	414	AGCGGACCUUCCCAGCUAG	630	CUAGCUGGGAAGGUCCGCU	Rh	[1636-1654]
172	415	CGCAUGUCAGGCAAGAAGG	631	CCUUCUUGCCUGACAUGCG	Rh,D	[1244-1262]
173	416	ACAACUGCGAGCACUCCAA	632	UUGGAGUGCUCGCAGUUGU	Rh,D	[690-708]
174	417	GAGGCGGAUUGAGAAGGAG	633	CUCCUUCUCAAUCCGCCUC		[1971-1989]
175	418	GGCCGCCGAGGUGAAGAAA	634	UUUCUUCACCUCGGCGGCC		[280-298]
176	419	CAGCUCUAUCCCAACCUCU	635	AGAGGUUGGGAUAGAGCUG		[1886-1904]
177	420	AGCUGGGCAGCCGACUGUA	636	UACAGUCGGCUGCCCAGCU		[615-633]
178	421	GCCAUGACAAGAACAAGG	637	CCUUGUUCUUGUCAUUGGC	Rh,D	[1214-1232]
179	422	CGCCAUGUUCUUAAGCCA	638	UGGCUUGAAGAACAUGGCG	Rh,Rb,P	[835-853]
180	423	CCGAGGUCACCAAGGACGU	639	ACGUCCUUGGUGACCUCGG	Rh,D	[786-804]
181	424	GGACCCAGCUCAGUGAGCU	640	AGCUCACUGAGCUGGGUCC		[635-653]
182	425	CCAUGACAUUUUGUUGGA	641	UCCAACAAAUGUCAUUGG		[2178-2196]
183	426	AGUGAGGCGGAUUGAGAAG	642	CUUCUCAAUCCGCCUCACU		[1968-1986]
184	427	UGCAGUCCAUAACGAGUG	643	CACUCGUUGAUGGACUGCA	Rh,Rt,M	[738-756]
185	428	UGUCACGAUGUCAGGCAA	644	UUGCCUGACAUGCGUGACA	Rh,D	[1239-1257]
186	429	CGACGACGAGAAGGAAAAG	645	CUUUUCCUUCUCGUCGUCG		[967-985]
187	430	ACAAGAACAAGGCCGACUU	646	AAGUCGGCCUUGUUCUUGU	Rh	[1221-1239]
188	431	CUUCAAGCCACACUGGGAU	647	AUCCAGUGUGGCUUGAAG	Rh,Rb,D	[844-862]
189	432	CCUGGGCCAUGUCAUUCU	648	AGAAUGACUAUGGCCCAGG		[1725-1743]
190	433	UUUGUUGGAGCGUGGAAAA	649	UUUUCCACGCUCCAACAAA		[2188-2206]
191	434	AGAACAUCCUGGUGUCACC	650	GGUGACACCAGGAUGUUCU		[423-441]
192	435	ACGCCACCGCCUUUGAGUU	651	AACUCAAAAGCGGUGGCGU	Rh	[1287-1305]
193	436	GUGAGGUACCAGCCUUGGA	652	UCCAAGGCUGGUACCUCAC	Rh	[1567-1585]
194	437	GCGCCUUCUGCCUCCUGGA	653	UCCAGGAGGCAGAAGGCGC		[252-270]
195	438	GCCUGGCCUUCAGCUUGUA	654	UACAAGCUGAAGGCCAGGC		[375-393]
196	439	CCCGGAAACUCCACAUCU	655	AGGAUGUGGAGUUUCCGGG		[1700-1718]
197	440	UCUUAAGCCACACUGGGA	656	UCCCAGUGUGGCUUGAAGA	Rh,Rb,D	[843-861]
198	441	UGUUGCUAUCAAUCCAAGA	657	UCUUGGAUUGAUAGCAACA	Rh	[2123-2141]
199	442	GAGUGGGCCGCGCAGACCA	658	UGGUCUGCGCGGCCACUC		[752-770]
200	443	CCUGAGACACAUGGGUGCU	659	AGCACCCAUGUGUCUCAGG	D,Rt,M	[1530-1548]
201	444	AGCCGACUGUACGGACCCA	660	UGGUCCGUACAGUCGGCU		[623-641]
202	445	GGGCCUCAGGGUGCACACA	661	UGUGUGCACCCUGAGGCC		[1486-1504]
203	446	ACUGGGAUGAGAAAUCCA	662	UGGAAUUUCUCAUCCAGU	Rh	[855-873]
204	447	AGAAUGACCUGGCCGAGU	663	ACUGCGGCCAGGUCAUUCU		[1952-1970]
205	448	CAUAUUUAUAGCCAGGUAC	664	GUACCUGGCUAUAUAUUG	Rh	[1788-1806]
206	449	AGGUGACCAUGACCUGCA	665	UGCAGGUCAUGGUCACCU	Rh,Rt,M	[1164-1182]
207	450	GCGCUGCAGUCCAUAACG	666	CGUUGAUGGACUGCAGCGC	Rh,Rt	[734-752]
208	451	GGUGACAAGAUGCGAGACG	667	CGUCUCGCAUCUUGUCACC	Rh	[1460-1478]
209	452	CUUCAAGAUAGGGAGGGA	668	UCCCUCCCUAUCUUGAAG		[2086-2104]
210	453	AGCUGCAAAUCGUGGAGAU	669	AUCUCCACGAUUUGCAGCU	Rh	[984-1002]
211	454	GUGGAGAACAUCUGGUGU	670	ACACCAGGAUGUUCUCCAC	Rh	[419-437]
212	455	GAACAAGGCCGACUUGUCA	671	UGACAAGUCGGCCUUGUUC	Rh	[1225-1243]
213	456	CAUGAUGCUGAGCCCGGAA	672	UUCGGGCUAGCAUCAUG		[1688-1706]
214	457	GCGCCUUGAAAAGCUGCUA	673	UAGCAGCUUUUCAAGGCGC	Rh	[1066-1084]
215	458	GCAGACUCUGGUCAAGAAG	674	CUUCUUGACCAGAGUCUGC	Rh	[2010-2028]
216	459	CCAGGCAGUGGAGAACAUC	675	GAUGUUCUCCACUGCCUGG	Rh	[412-430]

Tabla C: ARNlc de SERPINH1 de 19 unidades interespecie

No.	SEQ ID COD	ARNlc codificante	SEQ ID AC	ARNlc anticodificante	Otras especies	humano
1	676	CACUACAACUGCGAGCACU	973	AGUGCUCGAGUUGUAGUG	Rh,D	[686-704]
2	677	AACCGUGGCUUCAUGGUGA	974	UCACCAUGAAGCCACGGUU	Rh,Rt,M	[890-908]
3	678	GGCAAGAAGGACCUGUACC	975	GGUACAGGUCCUUCUUGCC	Rh,D,M	[1253-1271]
4	679	GGUGGACAACCGUGGCUUC	976	GAAGCCACGGUUGUCCACC	Rh,M	[883-901]
5	680	AGGCCAUGGCCAAGGACCA	977	UGGUCCUUGGCCAUGGCCU	Rh,D	[396-414]
6	681	CGCAGCGCGCUGCAGUCCA	978	UGGACUGCAGCGCGCUGCG	Rh,Rt	[728-746]
7	682	AGCAGCAAGCAGCACUACA	979	UGUAGUGCUGCUUGCUGCU	Rh,D	[674-692]
8	683	GGCCUCUACAACUACUACG	980	CGUAGUAGUUGUAGAGGCC	Rb,D	[950-968]
9	684	GAAGAUGCAGAAGAAGGCU	981	AGCCUUCUUCUGCAUCUUC	Rh,Rb,Rt	[1114-1132]
10	685	GGCUCCUGAGACACAUGGG	982	CCCAUGUGUCUCAGGAGCC	D	[1526-1544]
11	686	AGCAAGCAGCACUACAACU	983	AGUUGUAGUGCUGCUUGCU	Rh,D	[677-695]
12	687	GGAGGUGACCCAUGACCUG	984	CAGGUCAUGGGUCACCUC	Rh,Rt,M	[1162-1180]
13	688	CCCUUUGACCAGGACAUCU	985	AGAUGUCCUGGUCAAAGGG	Rh,Rt	[1322-1340]
14	689	CUCCUGAGACACAUGGGUG	986	CACCAUGUGUCUCAGGAG	D	[1528-1546]
15	690	AAGGCUCUGAGACACAUG	987	CAUGUGUCUCAGGAGCCUU	D	[1524-1542]
16	691	CGCGCUGCAGUCCAUCAAC	988	GUUGAUGGACUGCAGCGCG	Rh,Rt	[733-751]
17	692	AGGGUGUGGUGGAGGUGAC	989	GUCACCUCCACCACCCU	Rh,D	[1152-1170]
18	693	AGCACUACAACUGCGAGCA	990	UGCUCGAGUUGUAGUGCU	Rh,D	[684-702]
19	694	GGCUCCUGCUAUUCAUUG	991	CAAUGAAUAGCAGGGAGCC	D	[1421-1439]
20	695	GCGCGCAACGUGACCUGGA	992	UCCAGGUCACGUUGCGCGC	M	[596-614]
21	696	GCUGCAGUCCAUAACGAG	993	CUCGUUGAUGGACUGCAGC	Rh,Rt	[736-754]
22	697	ACCAAAGAGCAGCUGAAGA	994	UCUUCAGCUGCUCUUGGU	Rh,Rb,P	[1085-1103]
23	698	CCAAGGACGUGGAGCGCAC	995	GUGCGCUCCACGUCCUUGG	Rh,D	[795-813]
24	699	UGUUCUUAAGCCACACUG	996	CAGUGUGGCUUGAAGAACA	Rh,Rb,D	[840-858]
25	700	GCCCAAGGGUGUGGUGGAG	997	CUCCACCACACCCUUGGGC	Rh,D	[1147-1165]
26	701	ACAGGCCUCUACAACUACU	998	AGUAGUUGUAGAGGCCUGU	Rh,Rb,D,Rt,P	[947-965]
27	702	UGCGCAGCAGCAAGCAGCA	999	UGCUGCUUGCUGCUGCGCA	Rh,D	[669-687]
28	703	GGUGGAGGUGACCCAUGAC	1000	GUCAUGGGUCACCUCCACC	Rh,Rt,M	[1159-1177]

29	704	CUUUGACCAGGACAUCUAC	1001	GUAGAUGUCCUGGUCAAAG	Rh,Rt	[1324-1342]
30	705	AAGGGUGUGGUGGAGGUGA	1002	UCACCUCCACCACACCCUU	Rh,D	[1151-1169]
31	706	UCCUAUACCGUGGGUGUCA	1003	UGACACCCACGGUAUAGGA	Rh,D,P	[914-932]
32	707	GCGCAGACCACCGACGGCA	1004	UGCCGUCGGUGGUCUGCGC	D	[761-779]
33	708	CGCAGCAGCAAGCAGCACU	1005	AGUGCUGCUUGCUGCUGCG	Rh,D	[671-689]
34	709	GCCUCAUCAUCCUCAUGCC	1006	GGCAUGAGGAUGAUGAGGC	Rh,D,Rt,M	[1026-1044]
35	710	UCUCCAGCCUCAUCAUCCU	1007	AGGAUGAUGAGGCUGGAGA	Rh,D,Rt,M	[1020-1038]
36	711	CCAUGACAAGAACAAGGC	1008	GCCUUGUUCUUGUCAAUUG	Rh,D	[1215-1233]
37	712	AGCAGCACUACAACUGCGA	1009	UCGCAGUUGUAGUGCUGCU	Rh,D	[681-699]
38	713	UGCACCGGACAGGCCUCUA	1010	UAGAGGCCUGUCCGGUGCA	Rh,Rb,Rt,P	[939-957]
39	714	ACUCCAAGAUCAACUCCG	1011	CGGAAGUUGAUCUUGGAGU	Rh,D,Rt,M	[702-720]
40	715	UGGACAACCGUGGCUUCAU	1012	AUGAAGCCACGGUUGUCCA	Rh,M	[885-903]
41	716	GAGCAGCUGAAGAUCUGGA	1013	UCCAGAUCUUCAGCUGCUC	Rh,D	[1091-1109]
42	717	CAGAAGAAGGCUGUUGCCA	1014	UGGCAACAGCCUUCUUCUG	Rt	[1121-1139]
43	718	AGGCAAGAAGGACCUGUAC	1015	GUACAGGUCCUUCUUGCCU	Rh,D	[1252-1270]
44	719	CCUCUACAACUACUACGAC	1016	GUCGUAGUAGUUGUAGAGG	Rb,D	[952-970]
45	720	AGCAGCUGAAGAUCUGGAU	1017	AUCCAGAUCUUCAGCUGCU	Rh,D	[1092-1110]
46	721	AACUACUACGACGACGAGA	1018	UCUCGUCGUCGUAGUAGUU	Rb	[959-977]
47	722	GGCAAGCUGCCCGAGGUCA	1019	UGACCUCGGGCAGCUUGCC	Rh,D	[776-794]
48	723	CCGGACAGGCCUCUACAAC	1020	GUUGUAGAGGCCUGUCCGG	Rh,Rb,Rt,P	[943-961]
49	724	GCUCCUGCUAUUCAUUGG	1021	CCAAUGAAUAGCAGGGAGC	D	[1422-1440]
50	725	AACUGCGAGCACUCCAAGA	1022	UCUUGGAGUGCUCGCAGUU	Rh,D	[692-710]
51	726	GACACAUGGGUGCUAUUGG	1023	CCAAUAGCACCCAUGUGUC	Rh,Rt,M	[1535-1553]
52	727	GCACCGGACAGGCCUCUAC	1024	GUAGAGGCCUGUCCGGUGC	Rh,Rb,Rt,P	[940-958]
53	728	AGCGCAGCGCGCUGCAGUC	1025	GACUGCAGCGCGCUGCGCU	Rh,Rt	[726-744]
54	729	GGACGUGGAGCGCACGGAC	1026	GUCCGUGCGCUCCACGUCC	Rh,D	[799-817]
55	730	CAGCCUCAUCAUCCUCAUG	1027	CAUGAGGAUGAUGAGGCUG	Rh,D,Rt,M	[1024-1042]
56	731	AAGAUCAAACUCCGCGACA	1028	UGUCGCGGAAGUUGAUCUU	D	[707-725]
57	732	GCGCAACGUGACCUGGAAG	1029	CUCCAGGUCACGUUGCGC	M	[598-616]
58	733	ACUGCGAGCACUCCAAGAU	1030	AUCUUGGAGUGCUCGCAGU	Rh,D	[693-711]
59	734	GUGGACAACCGUGGCUUCA	1031	UGAAGCCACGGUUGUCCAC	Rh,M	[884-902]
60	735	CCACAAGCUCUCCAGCCUC	1032	GAGGCUGGAGAGCUUGUGG	Rh,D,P	[1012-1030]
61	736	CAAGAUGGUGGACAACCGU	1033	ACGGUUGUCCACCAUCUUG	Rh,Rb,M,P	[877-895]
62	737	CGAGCACUCCAAGAUAAC	1034	GUUGAUCUUGGAGUGCUCG	Rh,D	[697-715]
63	738	AGCUGCCCGAGGUCACCAA	1035	UUGGUGACCUCGGGCAGCU	Rh,D	[780-798]

64	739	GGACAUCUACGGGCGCGAG	1036	CUCGCGCCCGUAGAUGUCC	D	[1333-1351]
65	740	AGGACAUCUACGGGCGCGA	1037	UCGCGCCCGUAGAUGUCCU	D	[1332-1350]
66	741	UGUCAGGCAAGAAGGACCU	1038	AGGUCCUUCUUGCCUGACA	Rh,D	[1248-1266]
67	742	GGGUGUGGUGGAGGUGACC	1039	GGUCACCUCACCACACCC	Rh,D	[1153-1171]
68	743	CAAGCUCUCCAGCCUCAUC	1040	GAUGAGGCUGGAGAGCUUG	Rh,D,M,P	[1015-1033]
69	744	GUGACCCAUGACCUGCAGA	1041	UCUGCAGGUCAUGGGUCAC	Rh,Rt,M	[1166-1184]
70	745	GUUCUUAAGCCACACUGG	1042	CCAGUGUGGCUUGAAGAAC	Rh,Rb,D	[841-859]
71	746	ACAUCUACGGGCGCGAGGA	1043	UCCUCGCGCCCGUAGAUGU	D,M	[1335-1353]
72	747	UGGAGGUGACCCAUGACCU	1044	AGGUCAUGGGUCACCUCCA	Rh,Rt,M	[1161-1179]
73	748	UGCAGAAGAAGGCUGUUGC	1045	GCAACAGCCUUCUUCUGCA	Rt	[1119-1137]
74	749	UGUACCAGGCCAUGGCCAA	1046	UUGGCCAUGGCCUGGUACA	Rh,D	[390-408]
75	750	UGUGGUGGAGGUGACCAU	1047	AUGGGUCACCUCACCACA	Rh,D	[1156-1174]
76	751	AGAAGGACCUGUACCUGGC	1048	GCCAGGUACAGGUCCUUCU	Rh,D	[1257-1275]
77	752	AGCAGCUGCGCGACGAGGA	1049	UCCUCGUCGCGCAGCUGCU	Rh,D	[528-546]
78	753	ACGCCAUGUUCUUAAGCC	1050	GGCUUGAAGAACAUGGCGU	Rh,Rb,P	[834-852]
79	754	ACAAGAUGGUGGACAACCG	1051	CGGUUGUCCACCAUCUUGU	Rh,Rb,M,P	[876-894]
80	755	CUGCGAGCACUCCAAGAUC	1052	GAUCUUGGAGUGCUCGCAG	Rh,D	[694-712]
81	756	GUCACGAUGUCAGGCAAG	1053	CUUGCCUGACAUGCUGAC	Rh,D	[1240-1258]
82	757	ACGCAUGUCAGGCAAGAAG	1054	CUUCUUGCCUGACAUGCUG	Rh,D	[1243-1261]
83	758	UGCUAUUCAUUGGGCGCCU	1055	AGGCGCCCAAUGAAUAGCA	D	[1428-1446]
84	759	UGCGCGACGAGGAGGUGCA	1056	UGCACCUCCUCGUCGCGCA	Rh,D	[534-552]
85	760	GCAGCUGAAGAUCUGGAUG	1057	CAUCCAGAUCUUCAGCUGC	Rh,D	[1093-1111]
86	761	CCAUGACCUGCAGAAACAC	1058	GUGUUUCUGCAGGUCAUGG	Rh,Rt,M	[1171-1189]
87	762	AAGCUCUCCAGCCUCAUCA	1059	UGAUGAGGCUGGAGAGCUU	Rh,D,Rt,M,P	[1016-1034]
88	763	CAGCAAGCAGCACUACAAC	1060	GUUGUAGUGCUGCUUGCUG	Rh,D	[676-694]
89	764	AUGUUCUUAAGCCACACU	1061	AGUGUGGCUUGAAGAACA	Rh,Rb,D	[839-857]
90	765	UCCUGAGACACAUGGGUGC	1062	GCACCAUGUGUCUCAGGA	D,Rt,M	[1529-1547]
91	766	CACUCCAAGAUCAACUUC	1063	GGAAGUUGAUCUUGGAGUG	Rh,D,Rt,M	[701-719]
92	767	AAGGGUGACAAGAUGCGAG	1064	CUCGCAUCUUGUCACCCU	Rh,D	[1457-1475]
93	768	GACAGGCCUCUACAACUAC	1065	GUAGUUGUAGAGGCCUGUC	Rh,Rb,Rt,P	[946-964]

94	769	ACCCAUGACCUGCAGAAAC	1066	GUUUCUGCAGGUCAUGGGU	Rh,Rt,M	[1169-1187]
95	770	CACCACAAGAUGGUGGACA	1067	UGUCCACCAUCUUGUGGUG	Rh,Rb,M,P	[872-890]
96	771	GCAGAAGAAGGCUGUUGCC	1068	GGCAACAGCCUUCUUCUGC	Rt	[1120-1138]
97	772	GUGGUGGAGGUGACCCAUG	1069	CAUGGGUCACCUCCACCAC	Rh,Rb,Rt,M	[1157-1175]
98	773	AGGCCUCUACAACUACUAC	1070	GUAGUAGUUGUAGAGGCCU	Rh,Rb,D,Rt,P	[949-967]
99	774	GGUGACCCAUGACCUGCAG	1071	CUGCAGGUCAUGGGUACC	Rh,Rt,M	[1165-1183]
100	775	GCCGAGGUGAAGAAACCUG	1072	CAGGUUUCUUCACCUCGGC	Rh,Rt	[284-302]
101	776	CAACUACUACGACGACGAG	1073	CUCGUCGUCGUAGUAGUUG	Rb	[958-976]
102	777	CAAGAAGGACCUGUACCUG	1074	CAGGUACAGGUCCUUCUUG	Rh,D,M	[1255-1273]
103	778	UGUUCCACGCCACCGCCUU	1075	AAGGCGGUGGCGUGGAACA	D	[1281-1299]
104	779	CCUGCUAUUCAUUGGGCG	1076	CGCCCAAUGAAUAGCAGGG	D	[1425-1443]
105	780	CCGUGGCUUCAUGGUGACU	1077	AGUCACCAUGAAGCCACGG	Rh,Rt,M	[892-910]
106	781	CUACAACUACUACGACGAC	1078	GUCGUCGUAGUAGUUGUAG	Rb	[955-973]
107	782	GCAGCACUACAACUGCGAG	1079	CUCGCAGUUGUAGUGCUGC	Rh,D	[682-700]
108	783	UGGUGGACAACCGUGGCUU	1080	AAGCCACGGUUGUCCACCA	Rh,M	[882-900]
109	784	AGACCACCGACGGCAAGCU	1081	AGCUUGCCGUCGGUGGUCU	D,Rt	[765-783]
110	785	AGAAACACCUGGCUUGGGCU	1082	AGCCCAGCCAGGUGUUUCU	D	[1182-1200]
111	786	ACCAAGGACGUGGAGCGCA	1083	UGCUCUCCACGUCCUUGGU	Rh,D	[794-812]
112	787	CCGAGGUGAAGAAACCUGC	1084	GCAGGUUUCUUCACCUCGG	Rh,Rt	[285-303]
113	788	ACUACAACUGCGAGCACUC	1085	GAGUGCUCGCAGUUGUAGU	Rh,D	[687-705]
114	789	ACAAGCUCUCCAGCCUCAU	1086	AUGAGGCUGGAGAGCUUGU	Rh,D,M,P	[1014-1032]
115	790	AGGACGUGGAGCGCACGGA	1087	UCCGUGCGCUCCACGUCCU	Rh,D	[798-816]
116	791	GCUAUUCAUUGGGCGCCUG	1088	CAGGCGCCCAAUGAAUAGC	D	[1429-1447]
117	792	AACUCCGCGACAAGCGCA	1089	UGCUCUUGUCGCGGAAGUU	D	[713-731]
118	793	GCUCUCCAGCCUCAUCAUC	1090	GAUGAUGAGGCUGGAGAGC	Rh,D,Rt,M,P	[1018-1036]
119	794	AGAAGGCUGUUGCCAUCUC	1091	GAGAUGGCAACAGCCUUCU	Rt	[1125-1143]
120	795	GGUCACCAAGGACGUGGAG	1092	CUCCACGUCCUUGGUGACC	Rh,D	[790-808]
121	796	AGCUGCGCGACGAGGAGGU	1093	ACCUCUCGUCGCGCAGCU	Rh,D	[531-549]
122	797	CCCGAGGUCACCAAGGACG	1094	CGUCCUUGGUGACCUCGGG	Rh,D	[785-803]
123	798	AUGUCAGGCAAGAAGGACC	1095	GGUCCUUCUUGCCUGACAU	Rh,D	[1247-1265]
124	799	CGAGGUCACCAAGGACGUG	1096	CACGUCCUUGGUGACCUCG	Rh,D	[787-805]
125	800	GAUGCACCGGACAGGCCUC	1097	GAGGCCUGUCCGGUGCAUC	Rh,Rb,Rt,M,P	[937-955]
126	801	GCACUACAACUGCGAGCAC	1098	GUGCUCGCAGUUGUAGUGC	Rh,D	[685-703]
127	802	CCACAAGAUGGUGGACAAC	1099	GUUGUCCACCAUCUUGUGG	Rh,Rb,M,P	[874-892]
128	803	CAAGGGUGUGGUGGAGGUG	1100	CACCUCACCACACCCUUG	Rh,D	[1150-1168]

129	804	AGCUGAAGAUCUGGAUGGG	1101	CCCAUCCAGAUCUUCAGCU	Rh,D	[1095-1113]
130	805	ACCAGGCCAUGGCCAAGGA	1102	UCCUUGGCCAUGGCCUGGU	Rh,D	[393-411]
131	806	CAUGUUCUUAAGCCACAC	1103	GUGUGGCUUGAAGAACAUG	Rh,Rb,D	[838-856]
132	807	CAAGAUCAACUCCGCGAC	1104	GUCGCGGAAGUUGAUCUUG	D	[706-724]
133	808	UCCAGCCUCAUCAUCCUCA	1105	UGAGGAUGAUGAGGCUGGA	Rh,D,Rt,M	[1022-1040]
134	809	GCCCGAGGUCACCAAGGAC	1106	GUCCUUGGUGACCUCGGGC	Rh,D	[784-802]
135	810	UCAAGCCACACUGGGAUGA	1107	UCAUCCCAGUGUGGCUUGA	Rh,Rb	[846-864]
136	811	AGUCCAUAACGAGUGGGC	1108	GCCCAUCUGUUGAUGGACU	Rh,Rt,M	[741-759]
137	812	GACUUCGUGCGCAGCAGCA	1109	UGCUGCUGCGCACGAAGUC	Rh,D,M	[662-680]
138	813	CUCUCCAGCCUCAUCAUCC	1110	GGAUGAUGAGGCUGGAGAG	Rh,D,Rt,M,P	[1019-1037]
139	814	GCAGACCACCGACGGCAAG	1111	CUUGCCGUCGGUGGUCUGC	D,Rt	[763-781]
140	815	AUGCAGAAGAAGGCUGUUG	1112	CAACAGCCUUCUUCUGCAU	Rt	[1118-1136]
141	816	CAACCGUGGCUUCAUGGUG	1113	CACCAUGAAGCCACGGUUG	Rh,Rt,M	[889-907]
142	817	UACUACGACGACGAGAAGG	1114	CCUUCUCGUCGUCGUAGUA	Rb	[962-980]
143	818	GAAGGCUGUUGCCAUCUCC	1115	GGAGAUGGCAACAGCCUUC	Rt	[1126-1144]
144	819	UCACCAAGGACGUGGAGCG	1116	CGCUCCACGUCCUUGGUGA	Rh,D	[792-810]
145	820	CAGCUGAAGAUCUGGAUGG	1117	CCAUCCAGAUUCUUCAGCUG	Rh,D	[1094-1112]
146	821	UGGGCCUGACUGAGGCCAU	1118	AUGGCCUCAGUCAGGCCCA	Rt	[1200-1218]
147	822	ACCGUGGCUUCAUGGUGAC	1119	GUCACCAUGAAGCCACGGU	Rh,Rt,M	[891-909]
148	823	CAGUCCAUAACGAGUGGG	1120	CCCACUCGUUGAUGGACUG	Rh,Rt,M	[740-758]
149	824	CCGACGGCAAGCUGCCCGA	1121	UCGGGCAGCUUGCCGUCGG	D	[771-789]
150	825	ACAAGCGCAGCGCGCUGCA	1122	UGCAGCGCGCUGCGCUUGU	Rh,Rt	[723-741]
151	826	GAAACACCUGGCUGGGCUG	1123	CAGCCCAGCCAGGUGUUUC	D	[1183-1201]
152	827	AGGCUCCUGAGACACAUGG	1124	CCAUGUGUCUCAGGAGCCU	D	[1525-1543]
153	828	CAAGGACGUGGAGCGCACG	1125	CGUGCGCUCCACGUCCUUG	Rh,D	[796-814]
154	829	GCAGUCCAUAACGAGUGG	1126	CCACUCGUUGAUGGACUGC	Rh,Rt,M	[739-757]
155	830	AGAUGGUGGACAACCGUGG	1127	CCACGGUUGUCCACCAUCU	Rh,M	[879-897]
156	831	AAGCGCAGCGCGCUGCAGU	1128	ACUGCAGCGCGCUGCGCUU	Rh,Rt	[725-743]
157	832	CAUGUCAGGCAAGAAGGAC	1129	GUCCUUCUUGCCUGACAUG	Rh,D	[1246-1264]
158	833	CAAGCCACACUGGGAUGAG	1130	CUCAUCCCAGUGUGGCUUG	Rh,Rb	[847-865]
159	834	AAGAUGCAGAAGAAGGCUG	1131	CAGCCUUCUUCUGCAUCUU	Rh,Rt,M	[1115-1133]
160	835	GGCCAUGGCCAAGGACCAG	1132	CUGGUCCUUGGCCAUGGCC	Rh,D	[397-415]
161	836	GUGCGCAGCAGCAAGCAGC	1133	GCUGCUUGCUGCUGCGCAC	Rh,D	[668-686]
162	837	CAACUGCGAGCACUCCAAG	1134	CUUGGAGUGCUCGCAGUUG	Rh,D	[691-709]
163	838	UACAACUGCGAGCACUCCA	1135	UGGAGUGCUCGCAGUUGUA	Rh,D	[689-707]
164	839	CAUUGACAAGAACAAGGCC	1136	GGCCUUGUUCUUGUCAUUG	Rh,D	[1216-1234]
165	840	CAAGCAGCACUACAACUGC	1137	GCAGUUGUAGUGCUGCUUG	Rh,D	[679-697]

166	841	GUGUUCCACGCCACCGCCU	1138	AGGCGGUGGCGUGGAACAC	D	[1280-1298]
167	842	CCUGCUAUUCAUUGGGCGC	1139	GCGCCCAAUGAAUAGCAGG	D	[1426-1444]
168	843	GCCCACAAGCUCUCCAGCC	1140	GGCUGGAGAGCUUGUGGGC	Rh,D,P	[1010-1028]
169	844	CAGCAGCAAGCAGCACUAC	1141	GUAGUGCUGCUUGCUGCUG	Rh,D	[673-691]
170	845	UGAUGCACCGGACAGGCCU	1142	AGGCCUGUCCGGUGCAUCA	Rh,Rb,Rt,M,P	[936-954]
171	846	UCAACUCCGCGACAAGCG	1143	CGCUUGUCGCGGAAGUUGA	D	[711-729]
172	847	UCAGGCAAGAAGGACCUGU	1144	ACAGGUCCUUCUUGCCUGA	Rh,D	[1250-1268]
173	848	ACUUCGUGCGCAGCAGCAA	1145	UUGCUGCUGCGCACGAAGU	Rh,D,M	[663-681]
174	849	ACAACCGUGGCUUCAUGGU	1146	ACCAUGAAGCCACGGUUGU	Rh,Rt,M	[888-906]
175	850	AAGGCUGUUGCCAUCUCCU	1147	AGGAGAUGGCAACAGCCUU	D,Rt	[1127-1145]
176	851	GCAGCUGCGCGACGAGGAG	1148	CUCCUCGUCGCGCAGCUGC	Rh,D	[529-547]
177	852	UAUUCAUUGGGCGCCUGGU	1149	ACCAGGCGCCCAAUGAAUA	D	[1431-1449]
178	853	UCCACCACAAGAUGGUGGA	1150	UCCACCAUCUUGUGGUGGA	Rh,Rb,D,P	[870-888]
179	854	CCUGGCCCAACAAGCUCUC	1151	GAGAGCUUGUGGGCCAGGG	Rh,D,P	[1005-1023]
180	855	ACCAGGACAUCUACGGGCG	1152	CGCCCGUAGAUGUCCUGGU	D,Rt	[1329-1347]
181	856	GAUGAUGCACCGGACAGGC	1153	GCCUGUCCGGUGCAUCAUC	Rh,Rb,Rt,M	[934-952]
182	857	CAACGCCAUGUUCUUAAG	1154	CUUGAAGAACAUGGCGUUG	Rh,Rb,P	[832-850]
183	858	ACGGCAAGCUGCCCGAGGU	1155	ACCUCGGGCAGCUUGCCGU	Rh,D	[774-792]
184	859	CAGCGCGCUGCAGUCCAUC	1156	GAUGGACUGCAGCGCGCUG	Rh,Rt	[730-748]
185	860	CCCAAGGGUGUGGUGGAGG	1157	CCUCCACCACACCCUUGGG	Rh,D	[1148-1166]
186	861	CAUGGCCAAGGACCAGGCA	1158	UGCCUGGUCCUUGGCCAUG	Rh,D	[400-418]
187	862	CUCCAGCCUCAUCAUCCUC	1159	GAGGAUGAUGAGGCUGGAG	Rh,D,Rt,M	[1021-1039]
188	863	UCUACGGGCGCGAGGAGCU	1160	AGCUCCUCGCGCCCGUAGA	D,M	[1338-1356]
189	864	GGCCCACAAGCUCUCCAGC	1161	GCUGGAGAGCUUGUGGGCC	Rh,D,P	[1009-1027]
190	865	GUCAGGCAAGAAGGACCUG	1162	CAGGUCCUUCUUGCCUGAC	Rh,D	[1249-1267]
191	866	CAUCUACGGGCGCGAGGAG	1163	CUCCUCGCGCCCGUAGAUG	D,M	[1336-1354]
192	867	CGUGCGCAGCAGCAAGCAG	1164	CUGCUUGCUGCUGCGCACG	Rh,D,M	[667-685]
193	868	AGCCUCAUCAUCCUAUGC	1165	GCAUGAGGAUGAUGAGGCU	Rh,D,Rt,M	[1025-1043]
194	869	UUCAAGCCACACUGGGAUG	1166	CAUCCAGUGUGGCUUGAA	Rh,Rb	[845-863]
195	870	AAGAAGGCUGUUGCCAUCU	1167	AGAUGGCAACAGCCUUCUU	Rt	[1124-1142]
196	871	GGUGUGGUGGAGGUGACCC	1168	GGGUCACCUCACCACACC	Rh,D	[1154-1172]
197	872	GAGGUGACCCAUGACCUGC	1169	GCAGGUCAUGGGUACCUC	Rh,Rt,M	[1163-1181]

198	873	GUGGAGGUGACCCAUGACC	1170	GGUCAUGGGUCACCUCCAC	Rh,Rt,M	[1160-1178]
199	874	CACAAGAUGGUGGACAACC	1171	GGUUGUCCACCAUCUUGUG	Rh,Rb,M,P	[875-893]
200	875	CUGGCCCAAGCUCUCCA	1172	UGGAGAGCUUGUGGGCCAG	Rh,D,P	[1007-1025]
201	876	GAUGACUUCGUGCGCAGCA	1173	UGCUGCGCACGAAGUCAUC	Rh,Rt,M	[659-677]
202	877	ACUUCCGCGACAAGCGCAG	1174	CUGCGCUUGUCGCGGAAGU	D	[714-732]
203	878	AACGCCAUGUUCUUAAGC	1175	GCUUGAAGAACAUGGCGUU	Rh,Rb,P	[833-851]
204	879	GGACCUGUACCUGGCCAGC	1176	GCUGGCCAGGUACAGGUCC	Rh,D	[1261-1279]
205	880	GCGACGAGGAGGUGCACGC	1177	GCGUGCACCUCUCGUCGC	D	[537-555]
206	881	GCAAGCUGCCCGAGGUCAC	1178	GUGACCUCGGGCAGCUUGC	Rh,D	[777-795]
207	882	AUUCAUUGGGCGCCUGGUC	1179	GACCAGGCGCCCAAUGAAU	D	[1432-1450]
208	883	GAGGUCACCAAGGACGUGG	1180	CCACGUCCUUGGUGACCUC	Rh,D	[788-806]
209	884	AAGAAGGACCUGUACCUGG	1181	CCAGGUACAGGUCCUUCUU	Rh,D	[1256-1274]
210	885	GACAACCGUGGCUUCAUGG	1182	CCAUGAAGCCACGGUUGUC	Rh,Rt,M	[887-905]
211	886	CUGGGCCUGACUGAGGCCA	1183	UGGCCUCAGUCAGGCCAG	Rt	[1199-1217]
212	887	CUCCAAGAUCAACUCCGC	1184	GCGGAAGUUGAUCUUGGAG	Rh,D,Rt,M	[703-721]
213	888	CAACUCCGCGACAAGCGC	1185	GCGCUUGUCGCGGAAGUUG	D	[712-730]
214	889	CUCCUGCUAUUCAUUGGG	1186	CCCAAUGAAUAGCAGGGAG	D	[1423-1441]
215	890	AAGCAGCACUACAACUGCG	1187	CGCAGUUGUAGUGCUGCUU	Rh,D	[680-698]
216	891	GCGCAGCAGCAAGCAGCAC	1188	GUGCUGCUUGCUGCUGCGC	Rh,D	[670-688]
217	892	CAGGCCAUGGCCAAGGACC	1189	GGUCCUUGGCCAUGGCCUG	Rh,D	[395-413]
218	893	GUACCAGGCCAUGGCCAAG	1190	CUUGGCCAUGGCCUGGUAC	Rh,D	[391-409]
219	894	CUUCGUGCGCAGCAGCAAG	1191	CUUGCUGCUGCGCACGAAG	Rh,D,M	[664-682]
220	895	CAGCACUACAACUGCGAGC	1192	GCUCGAGUUGUAGUGCUG	Rh,D	[683-701]
221	896	UACAACUACUACGACGACG	1193	CGUCGUCGUAGUAGUUGUA	Rb	[956-974]
222	897	GAUGGUGGACAACCGUGGC	1194	GCCACGGUUGUCCACCAUC	Rh,M	[880-898]
223	898	CUACAACUGCGAGCACUCC	1195	GGAGUGCUCGCAGUUGUAG	Rh,D	[688-706]
224	899	AAGGACCUGUACCUGGCCA	1196	UGGCCAGGUACAGGUCCUU	Rh,D	[1259-1277]
225	900	GCUGCCCAGGUCACCAAG	1197	CUUGGUGACCUCGGGCAGC	Rh,D	[781-799]
226	901	GACAUCUACGGGCGCGAGG	1198	CCUCGCGCCCGUAGAUGUC	D,M	[1334-1352]
227	902	CCACCACAAGAUGGUGGAC	1199	GUCCACCAUCUUGUGGUGG	Rh,Rb,D,P	[871-889]
228	903	GCGCGACGAGGAGGUGCAC	1200	GUGCACCUCUCGUCGCGC	Rh,D	[535-553]
229	904	CUAUUCAUUGGGCGCCUGG	1201	CCAGGCGCCCAAUGAAUAG	D	[1430-1448]
230	905	CCAGGACAUCUACGGGCGC	1202	GCGCCCGUAGAUGUCCUGG	D,Rt	[1330-1348]
231	906	AAGAUGGUGGACAACCGUG	1203	CACGGUUGUCCACCAUCUU	Rh,M	[878-896]
232	907	CAGGACAUCUACGGGCGCG	1204	CGCGCCCGUAGAUGUCCUG	D	[1331-1349]
233	908	UCCAAGAUCAACUCCGCG	1205	CGCGGAAGUUGAUCUUGGA	D	[704-722]
234	909	GUCACCAAGGACGUGGAGC	1206	GCUCCACGUCCUUGGUGAC	Rh,D	[791-809]

235	910	CUGCCCGAGGUCACCAAGG	1207	CCUUGGUGACCUCGGGCAG	Rh,D	[782-800]
236	911	GACCAGGACAUCUACGGGC	1208	GCCCGUAGAUGUCCUGGUC	D,Rt	[1328-1346]
237	912	CCAUGGCCAAGGACCAGGC	1209	GCCUGGUCCUUGGCCAUGG	Rh,D	[399-417]
238	913	CACCAAGGACGUGGAGCGC	1210	GCGCUCCACGUCCUUGGUG	Rh,D	[793-811]
239	914	GACAAGCGCAGCGCGCUGC	1211	GCAGCGCGCUGCGCUUGUC	Rh,Rt	[722-740]
240	915	CAAGCGCAGCGCGCUGCAG	1212	CUGCAGCGCGCUGCGCUUG	Rh,Rt	[724-742]
241	916	CAGACCACCGACGGCAAGC	1213	GCUUGCCGUCGGUGGUCUG	D,Rt	[764-782]
242	917	GACCACCGACGGCAAGCUG	1214	CAGCUUGCCGUCGGUGGUC	D,Rt	[766-784]
243	918	AGGACCUGUACCUGGCCAG	1215	CUGGCCAGGUACAGGUCCU	Rh,D	[1260-1278]
244	919	CUGCUAUUAUUGGGCGCC	1216	GGCGCCCAAUGAAUAGCAG	D	[1427-1445]
245	920	UCAUUGGGCGCCUGGUCCG	1217	CGGACCAGGCGCCCAAUGA	Rh,D	[1434-1452]
246	921	GCUGCGCGACGAGGAGGUG	1218	CACCUCCUCGUCGCGCAGC	Rh,D	[532-550]
247	922	CGGCAAGCUGCCCGAGGUC	1219	GACCUCGGGCAGCUUGCCG	Rh,D	[775-793]
248	923	CCUCAUCAUCCUCAUGCCC	1220	GGGCAUGAGGAUGAUGAGG	Rh,D,Rt,M	[1027-1045]
249	924	CCAGGCCAUGGCCAAGGAC	1221	GUCCUUGGCCAUGGCCUGG	Rh,D	[394-412]
250	925	GCCAUGGCCAAGGACCAGG	1222	CCUGGUCCUUGGCCAUGGC	Rh,D	[398-416]
251	926	CCACCGACGGCAAGCUGCC	1223	GGCAGCUUGCCGUCGGUGG	D,Rt	[768-786]
252	927	AUGGUGGACAACCGUGGCU	1224	AGCCACGGUUGUCCACCAU	Rh,M	[881-899]
253	928	CUUCCGCGACAAGCGCAGC	1225	GCUGCGCUUGUCGCGGAAG	D	[715-733]
254	929	CGCGACGAGGAGGUGCAG	1226	CGUGCACCUCUCGUCGCG	Rh,D	[536-554]
255	930	UGGCCACAAGCUCUCCAG	1227	CUGGAGAGCUUGUGGGCCA	Rh,D,P	[1008-1026]
256	931	GAGCAGCUGCGCGACGAGG	1228	CCUCGUCGCGCAGCUGCUC	Rh,D	[527-545]
257	932	UGACCAGGACAUCUACGGG	1229	CCCGUAGAUGUCCUGGUCA	Rt	[1327-1345]
258	933	ACCACCGACGGCAAGCUGC	1230	GCAGCUUGCCGUCGGUGGU	D,Rt	[767-785]
259	934	GAAGGACCUGUACCUGGCC	1231	GGCCAGGUACAGGUCCUUC	Rh,D	[1258-1276]
260	935	CAUUGGGCGCCUGGUCCGG	1232	CCGACCAGGCGCCCAAUG	Rh,D	[1435-1453]
261	936	AUGCACCAGGACAGGCCUCU	1233	AGAGGCCUGUCCGGUGCAU	Rh,Rb,Rt,P	[938-956]
262	937	AUCAACUUCGCGACAAGC	1234	GCUUGUCGCGGAAGUUGAU	D	[710-728]
263	938	CAGCUGCGCGACGAGGAGG	1235	CCUCCUCGUCGCGCAGCUG	Rh,D	[530-548]
264	939	CAGAAACACCUGGCUGGGC	1236	GCCCAGCCAGGUGUUCUG	D	[1181-1199]
265	940	CUACGGGCGCGAGGAGCUG	1237	CAGCUCCUCGCGCCCGUAG	D,M	[1339-1357]
266	941	CGACGAGGAGGUGCACGCC	1238	GGCGUGCACCUCUCGUCG	D	[538-556]
267	942	UUUGACCAGGACAUCUACG	1239	CGUAGAUGUCCUGGUCAAA	Rt	[1325-1343]
268	943	GUCCAUAACGAGUGGGCC	1240	GGCCACUCGUUGAUGGAC	Rh,Rt,M	[742-760]
269	944	AUGACUUCGUGCGCAGCAG	1241	CUGCUGCGCACGAAGUCAU	Rh,Rt,M	[660-678]
270	945	UCCUGCUAUUCAUUGGGC	1242	GCCCAAUGAAUAGCAGGGA	D	[1424-1442]

271	946	CUGCGCGACGAGGAGGUGC	1243	GCACCUCCUCGUCGCGCAG	Rh,D	[533-551]
272	947	CAAGCUGCCCGAGGUCACC	1244	GGUGACCUCGGGCAGCUUG	Rh,D	[778-796]
273	948	AAGCUGCCCGAGGUCACCA	1245	UGGUGACCUCGGGCAGCUU	Rh,D	[779-797]
274	949	UUCUUAAGCCACACUGGG	1246	CCCAGUGUGGCUUGAAGAA	Rh,Rb,D	[842-860]
275	950	ACACCUGGCUUGGCGUGGGC	1247	GCCCAGCCCAGCCAGGUGU	D	[1186-1204]
276	951	UCCAUCAACGAGUGGGCCG	1248	CGGCCACUCGUUGAUGGA	Rt,M	[743-761]
277	952	AUCUACGGGCGCGAGGAGC	1249	GCUCCUCGCGCCCGUAGAU	D,M	[1337-1355]
278	953	UCGUGCGCAGCAGCAAGCA	1250	UGCUUGCUGCUGCGCACGA	Rh,D,M	[666-684]
279	954	CGACGGCAAGCUGCCCGAG	1251	CUCGGGCAGCUUGCCGUCG	D	[772-790]
280	955	UUCAUUGGGCGCCUGGUCC	1252	GGACCAGGCGCCCAUGAA	Rh,D	[1433-1451]
281	956	UUGACCAGGACAUCUACGG	1253	CCGUAGAUGUCCUGGUCAA	Rt	[1326-1344]
282	957	CCUGGCCACAAGCUCUCC	1254	GGAGAGCUUGUGGGCCAGG	Rh,D,P	[1006-1024]
283	958	UGACUUCGUGCGCAGCAGC	1255	GCUGCUGCGCACGAAGUCA	Rh,Rt,M	[661-679]
284	959	AUGAUGCACCGGACAGGCC	1256	GGCCUGUCCGGUGCAUCAU	Rh,Rb,Rt,M,P	[935-953]
285	960	CACCGACGGCAAGCUGCCC	1257	GGGCAGCUUGCCGUCGGUG	D,Rt	[769-787]
286	961	GACGGCAAGCUGCCCGAGG	1258	CCUCGGGCAGCUUGCCGUC	Rh,D	[773-791]
287	962	UACCAGGCCAUGGCCAAGG	1259	CCUUGGCCAUGGCCUGGUA	Rh,D	[392-410]
288	963	UCCGCGACAAGCGCAGCGC	1260	GCGCUGCGCUUGUCGCGGA	D	[717-735]
289	964	UUCCGCGACAAGCGCAGCG	1261	CGCUGCGCUUGUCGCGGAA	D	[716-734]
290	965	AAGGACGUGGAGCGCACGG	1262	CCGUGCGCUCCACGUCCUU	Rh,D	[797-815]
291	966	UUCCACCACAAGAUGGUGG	1263	CCACCAUCUUGUGGUGGAA	Rh,Rb,D,P	[869-887]
292	967	UACGGGCGCGAGGAGCUGC	1264	GCAGCUCCUCGCGCCCGUA	D,M	[1340-1358]
293	968	AAACACCUGGCUUGGGCUGG	1265	CCAGCCCAGCCAGGUGUUU	D	[1184-1202]
294	969	AACACCUGGCUUGGGCUGGG	1266	CCCAGCCCAGCCAGGUGUU	D	[1185-1203]
295	970	AUUGGGCGCCUGGUCCGGC	1267	GCCGGACCAGGCGCCCAAU	Rh,D	[1436-1454]
296	971	ACCGACGGCAAGCUGCCCG	1268	CGGGCAGCUUGCCGUCGGU	D	[770-788]
297	972	UUCGUGCGCAGCAGCAAGC	1269	GCUUGCUGCUGCGCACGAA	Rh,D,M	[665-683]

Tabla D: ARNic de 18+1 unidades activos de SERPINH1

No	SEQ ID	ARNic codificante	SEQ ID	ARNic anticodificante	Otras esp.	humano
1	1270	AGCCUUUGUUGCUAUCAAA	1849	UUUGAUAGCAACAAAGGCU	Rh	[2117-2135]
2	1271	GCCUAAGGGUGACAAGAU	1850	UAUCUUGUCACCCUUAGGC	Rh	[1453-1471]
3	1272	GGCCUAAGGGUGACAAGAA	1851	UUCUUGUCACCCUUAGGCC	Rh	[1452-1470]
4	1273	CCUCAAUAGUAUUAUAA	1852	UUAUGAAUACUGAUUGAG		[1774-1792]
5	1274	GGCGGAUUGAGAAGGAGCA	1853	UGCUCUUCUCAAUCCGCC		[1973-1991]
6	1275	GGCAGUGGAGAACAUCUA	1854	UAGGAUGUUCUCCACUGCC	Rh	[415-433]

7	1276	GGGUCAGCCAGCCCUCUUA	1855	UAAGAGGGCUGGCUGACCC	Rh	[1839-1857]
8	1277	GGGUGACAAGAUGCGAGAA	1856	UUCUCGCAUCUUGUCACCC	Rh,D	[1459-1477]
9	1278	GGACCAGGCAGUGGAGAAA	1857	UUUCUCCACUGCCUGGUCC	Rh	[409-427]
10	1279	GAGACACAUGGGUGCUAUA	1858	UAUAGCACCCAUGUGUCUC	Rh,D,Rt	[1533-1551]
11	1280	GUUGGAGCGUGGAAAAAAA	1859	UUUUUUUCCACGCUCCAAC		[2191-2208]
12	1281	GGAACAUGAGCCUUUGUUA	1860	UAACAAAGGCUCAUGUUC	Rh	[2109-2127]
13	1282	GCCAUGUUCUUAAGCCAA	1861	UUGGCUUGAAGAACAUGGC	Rh,Rb,D	[836-854]
14	1283	GGAUUGAGAAGGAGCUCCA	1862	UGGAGCUCCUUCUCAAUCC		[1976-1994]
15	1284	GGGAUGAACUUUUUGUUUA	1863	UAAACAAAAAGUUAUCCC	Rh	[2048-2066]
16	1285	GCCGCAGUGAGGCGGAUUA	1864	UAAUCCGCCUCACUGCGGC		[1963-1981]
17	1286	GGACCUUCCCAGCUAGAAA	1865	UUUCUAGCUGGGAAGGUCC	Rh	[1639-1657]
18	1287	GACCUUCCCAGCUAGAAUA	1866	UAUUCUAGCUGGGAAGGUC	Rh	[1640-1658]
19	1288	CCUGUGAGACCAAUUGAA	1867	UUCAAUUUGGUCUCACAGG	Rh	[1814-1832]
20	1289	UGGAGAACAUCUGGUGUA	1868	UACACCAGGAUGUUCUCCA	Rh	[420-438]
21	1290	GCCUUUGUUGCUAUAUUA	1869	UAUUGAUAGCAACAAAGGC	Rh	[2118-2136]
22	1291	CCGCCUUUGAGUUGGACAA	1870	UUGUCCAACUCAAAGGCGG	Rh	[1293-1311]
23	1292	CAGGCAGUGGAGAACAUA	1871	UGAUGUUCUCCACUGCCUG	Rh	[413-431]
24	1293	CACCUGUGAGACCAAUUA	1872	UAAUUUGGUCUCACAGGUG	Rh	[1812-1830]
25	1294	GGGAAGAUGCAGAAGAAGA	1873	UCUUCUUCUGCAUCUCCC	Rh,Rb,Rt	[1112-1130]
26	1295	GGCCAUGACAAGAACAAA	1874	UUUGUUCUUGUCAAUUGGCC	Rh,D	[1213-1231]
27	1296	GCCUUUGAGUUGGACACAA	1875	UUGUGUCCAACUCAAAGGC	Rh	[1295-1313]
28	1297	AGCGGACCUUCCCAGCUAA	1876	UUAGCUGGGAAGGUCCGCU	Rh	[1636-1654]
29	1298	GAAGAAGGCUGUUGCCAUA	1877	UAUGGCAACAGCCUUCUUC	Rt	[1123-1141]
30	1299	ACAAGAUGCGAGACGAGUA	1878	UACUCGUCUCGCAUCUUGU	Rh,Rt	[1464-1482]
31	1300	GAGGCGGAUUGAGAAGGAA	1879	UCCCUUCUCAAUCCGCCUC		[1971-1989]
32	1301	GGACAACCGUGGCUUCAUA	1880	UAUGAAGCCACGGUUGUCC	Rh,M	[886-904]
33	1302	CAUAUUUAUAGCCAGGUAA	1881	UUACCUGGCUAUAUAUAUG	Rh	[1788-1806]
34	1303	CGACGACGAGAAGGAAAAA	1882	UUUUUCCUUCUCGUCGUCG		[967-985]
35	1304	CUCACCUGUGAGACCAAAA	1883	UUUUGGUCUCACAGGUGAG	Rh	[1810-1828]
36	1305	GCGGCUCCUUGCUAUUCAA	1884	UUGAAUAGCAGGGAGCCGC		[1419-1437]
37	1306	AGAACAUCUGGUGUCACA	1885	UGUGACACCAGGAUGUUCU		[423-441]
38	1307	CACACUGGGAUGAGAAAUA	1886	UAUUUCUCAUCCAGUGUG	Rh	[852-870]
39	1308	GCUAGAAUUCACUCCACUA	1887	UAGUGGAGUGAAUUCUAGC	Rh	[1650-1668]
40	1309	CCUUAUCUUCUAGUGCA	1888	UGCACUAGGAAGAUGAAGG		[1389-1407]
41	1310	UGCUAUCAAUCCAAGAACA	1889	UGUUCUUGGAUUGAUAGCA	Rh	[2126-2144]
42	1311	GGAAGAUGCAGAAGAAGGA	1890	UCCUUCUUCUGCAUCUUC	Rh,Rb,Rt	[1113-1131]
43	1312	CAUGAGCCUUUGUUGCUAA	1891	UUAGCAACAAAGGCUCAUG	Rh	[2113-2131]
44	1313	GCGGAUUGAGAAGGAGCUA	1892	UAGCUCCUUCUCAAUCCGC		[1974-1992]
45	1314	UGCAGUCCAUAACGAGUA	1893	UACUCGUUGAUGGACUGCA	Rh,Rt,M	[738-756]
46	1315	GCACUGCGGAGAAGUUGAA	1894	UUCAACUUCUCCGCAGUGC		[321-339]
47	1316	CCAGGCAGUGGAGAACAUA	1895	UAUGUUCUCCACUGCCUGG	Rh	[412-430]
48	1317	GGCAAGAAGGACCUGUACA	1896	UGUACAGGUCCUUCUUGCC	Rh,D,M	[1253-1271]
49	1318	CUCUACAACUACUACGACA	1897	UGUCGUAGUAGUUGUAGA	Rb	[953-971]
50	1319	CUUCCAGCUAGAAUUCAA	1898	UUGAAUUCUAGCUGGGAAG	Rh	[1643-1661]
51	1320	AGGCGGAUUGAGAAGGAGA	1899	UCUCCUUCUCAAUCCGCCU		[1972-1990]
52	1321	GUUCCUAUACCGUGGGUGA	1900	UCACCCACGGUAUAGGACC	Rh	[912-930]

53	1322	GCAAGAAGGACCUGUACCA	1901	UGGUACAGGUCCUUCUUGC	Rh,D,M	[1254-1272]
54	1323	CCGUGGGUGUCAUGAUGAA	1902	UUCAUCAUGACACCCACGG	Rh	[921-939]
55	1324	GAUGCGAGACGAGUUAUAA	1903	UUAUAACUCGUCUCGCAUC	Rh	[1468-1486]
56	1325	GGCAGUGCUGAGCGCCGAA	1904	UUCGGCGCUCAGCACUGCC		[511-529]
57	1326	CAGCUAGAAUUCACUCCAA	1905	UUGGAGUGAAUUCUAGCUG	Rh	[1648-1666]
58	1327	GAGCUUCGCUGAUGACUUA	1906	UAAGUCAUCAGCGAAGCUC	Rh	[649-667]
59	1328	CUUUGAGUUGGACACAGAA	1907	UUCUGUGUCCAACUCAAAAG	Rh	[1297-1315]
60	1329	GGUGGACAACCGUGGCUUA	1908	UAAGCCACGGUUGUCCACC	Rh,M	[883-901]
61	1330	GCCUCAUCAUCCUCAUGCA	1909	UGCAUGAGGAUGAUGAGGC	Rh,D,Rt	[1026-1044]
62	1331	ACCAGGCAGUGGAGAACAA	1910	UUGUUCUCCACUGCCUGGU	Rh	[411-429]
63	1332	CCUGCCUCAAUCAGUAUUA	1911	UAAUACUGAUUGAGGCAGG		[1770-1788]
64	1333	GAUCAAGCCUGCCUCAUA	1912	UAUUGAGGCAGGCUUGAUC	Rh	[1763-1781]
65	1334	CAGACUCUGGUCAAGAAGA	1913	UCUUCUUGACCAGAGUCUG	Rh	[2011-2029]
66	1335	CGCGCUGCAGUCCAUCAAA	1914	UUUGAUGGACUGCAGCGCG	Rh,Rt	[733-751]
67	1336	CUGGCACUGCGGAGAAGUA	1915	UACUUCUCCGCAGUGCCAG		[318-336]
68	1337	CCAGCUCUAUCCCAACCUA	1916	UAGGUUGGGAUAGAGCUG		[1885-1903]
69	1338	AGGGUGUGGUGGAGGUGAA	1917	UUCACCUCCACCACACCCU	Rh,D	[1152-1170]
70	1339	AGUGAGGCGGAUUGAGAAA	1918	UUUCUCAAUCCGCCUCACU		[1968-1986]
71	1340	CGGACAGGCCUCUACAACA	1919	UGUUGUAGAGGCCUGUCCG	Rh,Rb,Rt	[944-962]
72	1341	CGACGAGAAGGAAAAGCUA	1920	UAGCUUUUCCUUCUCGUCG	Rh	[970-988]
73	1342	AGGCCAAGGCAGUGCUGAA	1921	UUCAGCACUGCCUUGGCCU	Rh	[504-522]
74	1343	GCCUCAGGGUGCACACAGA	1922	UCUGUGUGCACCUGAGGC		[1488-1506]
75	1344	GGAUGAGAAAUUCCACCAA	1923	UUGGUGGAAUUCUCAUCC	Rh	[859-877]
76	1345	AGAAGGAAAAGCUGCAAAA	1924	UUUUGCAGCUUUUCCUUCU	Rh	[975-993]
77	1346	AGCUCUAUCCCAACCUCUA	1925	UAGAGGUUGGGAUAGAGC	Rh	[1887-1905]
78	1347	UGACAAGAUGCGAGACGAA	1926	UUCGUCUCGCAUCUUGUCA	Rh	[1462-1480]
79	1348	AGAAGGAGCUCCAGGAGA	1927	UCUCCUGGGAGCUCCUUCU		[1982-2000]
80	1349	CCUUCUCACCUGUGAGACA	1928	UGUCUCACAGGUGAGAAGG	Rh	[1806-1824]
81	1350	GGCUUCUGGGCAGACUCUA	1929	UAGAGUCUGCCCAGAAGCC	Rh	[2001-2019]
82	1351	CCAGCCUCAUCAUCCUCAA	1930	UUGAGGAUGAUGAGGCUG	Rh,D,Rt	[1023-1041]
83	1352	CCAAAGGCUCUGAGACAA	1931	UUGUCUCAGGAGCCUUGG		[1521-1539]
84	1353	GGACCUGGGCCAUAGUCAA	1932	UUGACUAUGGCCAGGUCC		[1722-1740]
85	1354	GGGUGUCAUGAUGAUGCAA	1933	UUGCAUCAUCAUGACACCC	Rh	[925-943]
86	1355	GUACCAGCCUUGGAUACUA	1934	UAGUAUCCAAGGCUGGUAC	Rh	[1572-1590]
87	1356	GGCUGUUGCCAUCUCCUUA	1935	UAAGGAGAUGGCAACAGCC		[1129-1147]
88	1357	CGCAGUGAGGCGGAUUGAA	1936	UUCAAUCCGCCUCACUGCG		[1965-1983]
89	1358	CCAAGGACGUGGAGCGCAA	1937	UUGCGCUCCACGUCCUUGG	Rh,D	[795-813]
90	1359	GGCUCCUGAGACACAUGGA	1938	UCCAUGUGUCUCAGGAGCC	D	[1526-1544]
91	1360	GCUGCAGUCCAUAACGAA	1939	UUCGUUGAUGGACUGCAGC	Rh,Rt	[736-754]
92	1361	CCAGGUACCUUCUCACCUA	1940	UAGGUGAGAAGGUACCUGG	Rh	[1799-1817]
93	1362	GCAGCGCGCUGCAGUCCAA	1941	UUGGACUGCAGCGCGCUGC	Rh,Rt	[729-747]
94	1363	GAGACCAAAUUGAGCUAGA	1942	UCUAGCUCAAUUUGGUCUC	Rh	[1819-1837]
95	1364	GCCGCCGAGGUGAAGAAAA	1943	UUUUCUUCACCUCGGCGGC		[281-299]
96	1365	GCAGACUCUGGUCAAGAAA	1944	UUUCUUGACCAGAGUCUGC	Rh	[2010-2028]
97	1366	CUAGAAUUCACUCCACUUA	1945	UAAGUGGAGUGAAUUCUA	Rh	[1651-1669]
98	1367	GCAGUGGAGAACAUCUGA	1946	UCAGGAUGUUCUCCACUGC	Rh	[416-434]

99	1368	CGCAUGUCAGGCAAGAAGA	1947	UCUUCUUGCCUGACAUGCG	Rh,D	[1244-1262]
10	1369	CGGAUUGAGAAGGAGCUCA	1948	UGAGCUCCUUCUCAUCCG		[1975-1993]
10	1370	AGGUGAGGUACCAGCCUUA	1949	UAAGGCUGGUACCUCACCU	Rh	[1565-1583]
10	1371	CCACACUGGGAUGAGAAAA	1950	UUUUCUCAUCCCAGUGUGG	Rh	[851-869]
10	1372	GCCAUUGACAAGAACAAGA	1951	UCUUGUUCUUGUCAAUUGG	Rh,D	[1214-1232]
10	1373	GCGCUGCAGUCCAUCAACA	1952	UGUUGAUGGACUGCAGCGC	Rh,Rt	[734-752]
10	1374	CUCCCAACUAUAAAACUAA	1953	UUAGUUUUUAUAGUUGGGA	Rh	[1903-1921]
10	1375	GGUGACAAGAUGCGAGACA	1954	UGUCUCGCAUCUUGUCACC	Rh	[1460-1478]
10	1376	GGCCGACUUGUCACGCAUA	1955	UAUGCGUGACAAGUCGGCC	Rh	[1231-1249]
10	1377	CCUAAGGGUGACAAGAUGA	1956	UCAUCUUGUCACCCUAGG	Rh	[1454-1472]
10	1378	UGAGACACAUGGGUGCUAA	1957	UUAGCACCCAUGUGUCUCA	Rh,D,Rt	[1532-1550]
11	1379	GGGUGGAAAAACAGACCGA	1958	UCGGUCUGUUUUUCCACCC		[1601-1619]
11	1380	GGUGGAGGUGACCCAUGAA	1959	UUCAUGGGUCACCUCCACC	Rh,Rt,M	[1159-1177]
11	1381	CUUUGACCAGGACAUCUAA	1960	UUAGAUGUCCUGGUCAAAG	Rh,Rt	[1324-1342]
11	1382	GAACAUGAGCCUUUGUUGA	1961	UCAACAAAGGCUCAUGUUC	Rh	[2110-2128]
11	1383	AGCCUUGGAUACUCCAUGA	1962	UCAUGGAGUAUCCAAGGCU	Rh	[1577-1595]
11	1384	GGAGGUGACCCAUGACCUA	1963	UAGGUCAUGGGUCACCUCC	Rh,Rt,M	[1162-1180]
11	1385	AGAUAAGCCUGCCUCAA	1964	UUUGAGGCAGGCUUGAUCU	Rh	[1762-1780]
11	1386	GCCCAAGGGUGUGGUGGAA	1965	UCCACACACCCUUGGGC	Rh,D	[1147-1165]
11	1387	AGAACAAGGCCGACUUGUA	1966	UACAAGUCGGCCUUGUUCU	Rh	[1224-1242]
11	1388	GUGGCUUCAUGGUGACUCA	1967	UGAGUCACCAUGAAGCCAC	Rh	[894-912]
12	1389	CUCCUGAGACACAUGGGUA	1968	UACCAUGUGUCUCAGGAG	D	[1528-1546]
12	1390	CAGCCUUGGAUACUCCAUA	1969	UAUGGAGUAUCCAAGGCUG	Rh	[1576-1594]
12	1391	AAGGCUCUGAGACACAUA	1970	UAUGUGUCUCAGGAGCCUU	D	[1524-1542]
12	1392	AGAAGAAGGCUGUUGCCAA	1971	UUGGCAACAGCCUUCUUCU	Rt	[1122-1140]
12	1393	CUACUACGACGACGAGAAA	1972	UUUCUCGUCGUCGUAGUAG	Rb	[961-979]
12	1394	CCUUUGUUGCUAUCAAUCA	1973	UGAUUGAUAGCAACAAAGG	Rh	[2119-2137]
12	1395	AGGCAGUGGAGAACAUCCA	1974	UGGAUGUUCUCCACUGCCU	Rh	[414-432]
12	1396	CCAUCACGUGGAGCCUCUA	1975	UAGAGGCUCCACGUGAUGG	Rh	[1045-1063]
12	1397	AGCUCUCCAGCCUCAUCAA	1976	UUGAUGAGGCUGGAGAGCU	Rh,D,Rt	[1017-1035]
12	1398	GGCUCUCCUGCUAUUCAUUA	1977	UAAUGAAUAGCAGGGAGCC	D	[1421-1439]
13	1399	GGGAACAUGAGCCUUUGUA	1978	UACAAAGGCUCAUGUCCC	Rh	[2108-2126]
13	1400	GGGCCAUAGUCAUUCUGCA	1979	UGCAGAAUGACUAUGGCC		[1728-1746]
13	1401	CCAAGAGCAGCUGAAGAA	1980	UUCUUCAGCUGCUCUUUGG	Rh,Rb,P	[1086-1104]
13	1402	GACGAGAAGGAAAAGCUGA	1981	UCAGCUUUUCCUUCUCGUC	Rh	[971-989]
13	1403	GGGCUUCUGGGCAGACUCA	1982	UGAGUCUGCCCAGAAGCCC	Rh	[2000-2018]
13	1404	CAAGGACCAGGCAGUGGAA	1983	UCCACUGCCUGGUCCUUG	Rh	[406-424]
13	1405	CUGUGAGACCAAUUGAGA	1984	UCUCAAUUUGGUCUCACAG	Rh	[1815-1833]
13	1406	GACUGAGGCCAUUGACAAA	1985	UUUGUCAAUUGGCCUCAGUC	Rh	[1207-1225]
13	1407	GACUUGUCACGCAUGUCA	1986	UUGACAUGCGUGACAAGUC	Rh	[1235-1253]
13	1408	GAGGUGAGGUACCAGCCUA	1987	UAGGCUGGUACCUCACCUC		[1564-1582]
14	1409	CAGAUACCAUGAUGCUGAA	1988	UUCAGCAUCAUGGUAUCUG	Rh	[1681-1699]
14	1410	AGGCAAGAAGGACCUGUAA	1989	UUACAGGUCCUUCUUGCCU	Rh,D	[1252-1270]
14	1411	CUGGGAUGAGAAAUUCCAA	1990	UUGGAAUUCUCAUCCCAG	Rh	[856-874]
14	1412	AGGUACCAGCCUUGGAUAA	1991	UUUAUCCAAGGCUGGUACCU	Rh	[1570-1588]
14	1413	CAGCCAGCCUUCUUCUGAA	1992	UUCAGAAGAGGGCUGGCUG		[1843-1861]

14	1414	GUGUCAUGAUGAUGCACCA	1993	UGGUGCAUCAUCAUGACAC	Rh	[927-945]
14	1415	CCUCUACAACUACUACGAA	1994	UUCGUAGUAGUUGUAGAG	Rb,D	[952-970]
14	1416	CCGCCGAGGUGAAGAAACA	1995	UGUUUCUUCACCUCGGCGG	Rh	[282-300]
14	1417	GCUAUCAAUCCAAGAACUA	1996	UAGUUCUUGGAUUGAUAGC	Rh	[2127-2145]
14	1418	AGCCUGCCUCAUCAGUAA	1997	UUACUGAUUGAGGCAGGCU		[1768-1786]
15	1419	GGUCCGGCCUAAGGGUGAA	1998	UUCACCCUAGGCCGGACC	Rh	[1447-1465]
15	1420	GAAGGAAAAGCUGCAAAUA	1999	UAUUUGCAGCUUUUCCUUC	Rh	[976-994]
15	1421	GGCCUCUACAACUACUACA	2000	UGUAGUAGUUGUAGAGGCC	Rb,D	[950-968]
15	1422	UGUUCUUAAGCCACACUA	2001	UAGUGUGGCUUGAAGAACA	Rh,Rb,D	[840-858]
15	1423	GGCCAAGGCAGUGCUGAGA	2002	UCUCAGCACUGCCUUGGCC	Rh	[505-523]
15	1424	AGAAAUUCCACCACAAGAA	2003	UUCUUGUGGUGGAAUUCU	Rh	[864-882]
15	1425	CUGCAGUCCAUAACGAGA	2004	UCUCGUUGAUGGACUGCAG	Rh,Rt,M	[737-755]
15	1426	CCAGCGUGUCCACGCCAA	2005	UUGGCGUGGAACACGCUGG		[1275-1293]
15	1427	GCUCCCUCCUGCUUCUCAA	2006	UUGAGAAGCAGGAGGGAGC		[234-252]
15	1428	CCGGACAGGCCUCUACAAA	2007	UUUGUAGAGGCCUGUCCGG	Rh,Rb,Rt	[943-961]
16	1429	CCCAUCACGUGGAGCCUCA	2008	UGAGGCUCCACGUGAUGGG	Rh	[1044-1062]
16	1430	CCGGCCUAAGGGUGACAAA	2009	UUUGUCACCCUAGGCCGG	Rh	[1450-1468]
16	1431	CCUAUACCGUGGGUGUCAA	2010	UUGACACCCACGGUAUAGG	Rh,D,P	[915-933]
16	1432	CAGUGGAGAACAUCUGGA	2011	UCCAGGAUGUUCUCCACUG	Rh	[417-435]
16	1433	CACUGGGAUGAGAAAUUCA	2012	UGAAUUUCUCAUCCAGUG	Rh	[854-872]
16	1434	AUCCAAAGGCUCCUGAGAA	2013	UUCUCAGGAGCCUUGGAU		[1519-1537]
16	1435	UGAGAAAUUCCACCACAAA	2014	UUUGUGGUGGAAUUCUCA	Rh	[862-880]
16	1436	GGUGGAAAAACAGACCGGA	2015	UCCGGUCUGUUUUUCCACC		[1602-1620]
16	1437	GCUGGGCAGCCGACUGUAA	2016	UUACAGUCGGCUGCCCAGC		[616-634]
16	1438	CCAUAUGUCAUUCUGCCUGA	2017	UCAGGCAGAAUGACUAUGG		[1731-1749]
17	1439	GCACCGGACAGGCCUCUAA	2018	UUAGAGGCCUGUCCGGUGC	Rh,Rb,Rt	[940-958]
17	1440	GUUGGACACAGAUGGCAAA	2019	UUUGCCAUCUGUGUCCAAC		[1303-1321]
17	1441	GCCUGCCUCAAUCAUAUA	2020	UAUACUGAUUGAGGCAGGC		[1769-1787]
17	1442	GAUCAACUCCGCGACAAA	2021	UUUGUCGCGGAAGUUGAUC	D	[709-727]
17	1443	GGCCGAGUGAGGCGGAUA	2022	UAUCCGCCUCACUGCGGCC		[1962-1980]
17	1444	CUGCGGAGAAGUUGAGCCA	2023	UGGCUCAACUUCUCCGCAG		[324-342]
17	1445	GCAUCCAAAGGCUCCUGAA	2024	UUCAGGAGCCUUGGAUGC		[1517-1535]
17	1446	GCUUCUGGGCAGACUCUGA	2025	UCAGAGUCUGCCCAGAAGC	Rh	[2002-2020]
17	1447	CCAGCCCUCUUCUGACACA	2026	UGUGUCAGAAGAGGGCUGG		[1846-1864]
17	1448	GCUCUAUCCCAACCUCUCA	2027	UGAGAGGUUGGGAUAGAG	Rh	[1888-1906]
18	1449	GGACGUGGAGCGCACGGAA	2028	UUCGUGCGCUCCACGUCC	Rh,D	[799-817]
18	1450	CCAAGGCAGUGCUGAGCGA	2029	UCGCUCAGCACUGCCUUGG	Rh	[507-525]
18	1451	GCAGAAGAAGGCUGUUGCA	2030	UGCAACAGCCUUCUUCUGC	Rt	[1120-1138]
18	1452	GACAUUUUGUUGGAGCGUA	2031	UACGCUCCAACAAAUGUC		[2183-2201]
18	1453	CGAGCACUCCAAGAUCAAA	2032	UUUGAUCUUGGAGUGCUCG	Rh,D	[697-715]
18	1454	UCAUGAUGAUGCACCGGAA	2033	UUCGUGCAUCAUCAUGA	Rh	[930-948]
18	1455	CCUGCUUCUCAGCGCCUUA	2034	UAAGGCGCUGAGAAGCAGG		[241-259]
18	1456	CCCAACCUCUCCCAACUAA	2035	UUAGUUGGGAGAGGUUGG	Rh	[1895-1913]
18	1457	UGGGCAGACUCUGGUCAAA	2036	UUUGACCAGAGUCUGCCCA	Rh	[2007-2025]
18	1458	CUCUGGUCAAGAAGCAUCA	2037	UGAUGCUUCUUGACCAGAG	Rh	[2015-2033]
19	1459	GAGCCUCUCGAGCGCCUUA	2038	UAAGGCGCUCGAGAGGCUC		[1055-1073]

19	1460	AGAAGGCUGUUGCCAUCUA	2039	UAGAUGGCAACAGCCUUCU	Rt	[1125-1143]
19	1461	CCCUGCUAGUCAACGCCAA	2040	UUGGCGUUGACUAGCAGGG	Rh	[822-840]
19	1462	GCCUUCAGCUUGUACCAGA	2041	UCUGGUACAAGCUGAAGGC		[380-398]
19	1463	GCUGCUAACCAAAGAGCAA	2042	UUGCUCUUUGGUUAGCAGC		[1078-1096]
19	1464	CCCACAAGCUCUCCAGCCA	2043	UGGCGUGAGAGCUUGUGGG	Rh,D,P	[1011-1029]
19	1465	GCUCCUGCUAUUCAUUGA	2044	UCAAUGAAUAGCAGGGAGC	D	[1422-1440]
19	1466	GUUCUUCAAAGAUAGGGAA	2045	UCCCCUAUCUUUGAAGAAC		[2083-2101]
19	1467	GUCAGCCAGCCUCUUCUA	2046	UAGAAGAGGGCUGGCUGAC	Rh	[1841-1859]
19	1468	GCGGGACACCCAAAGCGGA	2047	UCCGCUUUGGGUGUCCCGC		[1405-1423]
20	1469	AGCGCAGCGCGCUGCAGUA	2048	UACUGCAGCGCGCUGCGCU	Rh,Rt	[726-744]
20	1470	CCGGAACUCCACAUCUA	2049	UAGGAUGUGGAGUUUCCGG		[1701-1719]
20	1471	CCAUUGACAAGAACAAGGA	2050	UCCUUGUUCUUGUCA AUGG	Rh,D	[1215-1233]
20	1472	GGACAUCUACGGGCGCGAA	2051	UUCGCGCCCGUAGAUGUCC	D	[1333-1351]
20	1473	GACACAUGGGUGCUAUUGA	2052	UCAAUAGCACCCAUGUGUC	Rh,Rt,M	[1535-1553]
20	1474	CCUGGCACUGCGGAGAAGA	2053	UCUUCUCCGCAGUGCCAGG		[317-335]
20	1475	GGGCCUGACUGAGGCCAUA	2054	UAUGGCCUCAGUCAGGCC	Rt	[1201-1219]
20	1476	ACACUGGGAUGAGAAAUA	2055	UAAUUUCUCAUCCAGUGU	Rh	[853-871]
20	1477	GGUCAGCCAGCCUCUUA	2056	UGAAGAGGGCUGGCUGACC	Rh	[1840-1858]
20	1478	GUGAGGCGGAUUGAGAAGA	2057	UCUUCUCAUCCGCCUCAC		[1969-1987]
21	1479	UCACUGUGAGACCAAAUA	2058	UAUUUGGUCUCACAGGUGA	Rh	[1811-1829]
21	1480	AGCUGCAAAUCGUGGAGAA	2059	UUCUCCACGAUUUGCAGCU	Rh	[984-1002]
21	1481	GGUGCACACAGGAUGGCAA	2060	UUGCCAUCCUGUGUGCACC	Rh	[1495-1513]
21	1482	GGUGUGGUGGAGGUGACA	2061	UGUACCUCACCACACCC	Rh,D	[1153-1171]
21	1483	CCAGCCUUGGAUACUCAA	2062	UUGGAGUAUCCAAGGCUGG	Rh	[1575-1593]
21	1484	CCACAAGCUCUCCAGCCUA	2063	UAGGCUGGAGAGCUUGUGG	Rh,D,P	[1012-1030]
21	1485	AAAGGCUCUGAGACACAA	2064	UUGUGUCUCAGGAGCCUUU		[1523-1541]
21	1486	AGGAAAAGCUGCAAAUCGA	2065	UCGAUUUGCAGCUUUUCCU	Rh	[978-996]
21	1487	CGCAGCAGCUCUCCAGCACA	2066	UGUGCCAGGAGCUGCUGCG		[307-325]
21	1488	GGUGUCAUGAUGAUGCACA	2067	UGUGCAUCAUGACACC	Rh	[926-944]
22	1489	CCUCUUCUGACACUAAAAA	2068	UUUUUAGUGUCAGAAGAG		[1851-1869]
22	1490	AGCUAGAAUUCACUCCACA	2069	UGUGGAGUGAAUUCUAGCU	Rh	[1649-1667]
22	1491	CGCUGGGCGGCAAGGCGAA	2070	UUCGCCUUGCCGCCAGCG		[474-492]
22	1492	GGCCUGGCCUUCAGCUUGA	2071	UCAAGCUGAAGGCCAGGCC		[374-392]
22	1493	AGACACAUGGGUGCUAUUA	2072	UAAUAGCACCCAUGUGUCU	Rh,Rt,M	[1534-1552]
22	1494	CGUGGGUGUCAUGAUGAUA	2073	UAUCAUCAUGACCCACG	Rh	[922-940]
22	1495	GUGGGUGUCAUGAUGAUGA	2074	UCAUCAUCAUGACCCAC	Rh	[923-941]
22	1496	GAGAAGGAGCUCUCCAGGAA	2075	UUCUGGGAGCUCUUCUC		[1981-1999]
22	1497	GACUCUGGUCAAGAAGCAA	2076	UUGCUUCUUGACCAGAGUC	Rh	[2013-2031]
22	1498	CACUAAAACACCUCAGCUA	2077	UAGCUGAGGUGUUUUAGU		[1861-1879]
23	1499	GGAGGCAUCCAAAGGCUCA	2078	UGAGCCUUUGGAUGCCUCC		[1513-1531]
23	1500	GACCCAGCUCAGUGAGCUA	2079	UAGCUCACUGAGCUGGGUC		[636-654]
23	1501	CCAUGACCUGCAGAAACAA	2080	UUGUUUCUGCAGGUCAUGG	Rh,Rt,M	[1171-1189]
23	1502	AGAUGCAGAAGAAGGCUGA	2081	UCAGCCUUCUUCUGCAUCU	Rh,Rt,M	[1116-1134]
23	1503	CAGCAAGCAGCACUACAAA	2082	UUUGUAGUGCUGCUUGCUG	Rh,D	[676-694]
23	1504	CAAGCUCUCCAGCCUCAUA	2083	UAUGAGGCUGGAGAGCUUG	Rh,D,M,P	[1015-1033]
23	1505	UGCAGAAGAAGGCUGUUGA	2084	UCAACAGCCUUCUUCUGCA	Rt	[1119-1137]

23	1506	GGCGCGAGGAGCUGCGCAA	2085	UUGCGCAGCUCCUCGCGCC	Rh,D,M	[1344-1362]
23	1507	GGUACCAGCCUUGGAUACA	2086	UGUAUCCAAGGCUGGUACC	Rh	[1571-1589]
23	1508	GCAGCCGACUGUACGGACA	2087	UGUCCGUACAGUCGGCUGC		[621-639]
24	1509	CAGCCUCAUCAUCCUCAUA	2088	UAUGAGGAUGAUGAGGCU	Rh,D,Rt	[1024-1042]
24	1510	GCCACCGCCUUGAGUUGA	2089	UCAACUCAAAGGCGGUGGC	Rh	[1289-1307]
24	1511	AGAAGGACCUGUACCUGGA	2090	UCCAGGUACAGGUCCUUCU	Rh,D	[1257-1275]
24	1512	GGUGAAGAAACCUGCAGCA	2091	UGCUGCAGGUUUCUUCACC	Rh	[289-307]
24	1513	GUACCUUCUCACCUGUGAA	2092	UUCACAGGUGAGAAGGUAC	Rh	[1803-1821]
24	1514	GGCCAAGGACCAGGCAGUA	2093	UACUGCCUGGUCCUUGGCC	Rh	[403-421]
24	1515	GGCGGCAAGGCGACCACGA	2094	UCGUGGUCGCCUUGCCGCC		[479-497]
24	1516	AGCACUCCAAGAUAACUA	2095	UAGUUGAUCUUGGAGUGCU	Rh,D	[699-717]
24	1517	AUAUUUAUAGCCAGGUACA	2096	UGUACCUGGCUAUAUUUAU	Rh	[1789-1807]
24	1518	GGCAGCCGACUGUACGGAA	2097	UCCCGUACAGUCGGCUGCC		[620-638]
25	1519	GUCACGCAUGUCAGGCAA	2098	UUUGCCUGACAUGCGUGAC	Rh,D	[1240-1258]
25	1520	GACAGGCCUCUACAACUAA	2099	UUAGUUGUAGAGGCCUGUC	Rh,Rb,Rt	[946-964]
25	1521	GAUGCAGAAGAAGGCUGUA	2100	UACAGCCUUCUUCUGCAUC	Rh,Rt,M	[1117-1135]
25	1522	ACCCAUGACCUGCAGAAAA	2101	UUUUCUGCAGGUCAUGGGU	Rh,Rt,M	[1169-1187]
25	1523	GGCUUCAUGGUGACUCGGA	2102	UCCGAGUCACCAUGAAGCC	Rh	[896-914]
25	1524	UGCCUCAAUCAUAUUCAA	2103	UUGAAUACUGAUUGAGGCA		[1772-1790]
25	1525	GUUCUUAAGCCACACUGA	2104	UCAGUGUGGCUUGAAGAAC	Rh,Rb,D	[841-859]
25	1526	ACUCCAAGAUAACUCCA	2105	UGGAAGUUGAUCUUGGAG	Rh,D,Rt	[702-720]
25	1527	GCUGUUCUACGCCACCAA	2106	UUGGUCGGCGUAGAACAGC	Rh	[1369-1387]
25	1528	UAGUCAACGCCAUGUUCUA	2107	UAGAACAUGGCGUUGACUA	Rh	[828-846]
26	1529	CCGUGUGCCUGAGCGGACA	2108	UGUCCGCUCAGGCACACGG	Rh	[1625-1643]
26	1530	AGGCCUCUACAACUACUAA	2109	UUAGUAGUUGUAGAGGCCU	Rh,Rb,D	[949-967]
26	1531	GCUUCAUGGUGACUCGGUA	2110	UACCGAGUCACCAUGAAGC	Rh	[897-915]
26	1532	GGUCAAGAAGCAUCGUGUA	2111	UACACGAUGCUUCUUGACC	Rh	[2019-2037]
26	1533	CUGCGAGCACUCCAAGAU	2112	UAUCUUGGAGUGCUCGCAG	Rh,D	[694-712]
26	1534	GUCCUAUACCGUGGGUGUA	2113	UACACCCACGUAUAGGAC	Rh	[913-931]
26	1535	GGCCUGACUGAGGCCAUUA	2114	UAAUGGCCUCAGUCAGGCC	Rh	[1202-1220]
26	1536	CACUCCAAGAUAACUUCA	2115	UGAAGUUGAUCUUGGAGU	Rh,D,Rt	[701-719]
26	1537	GCGUCGCAGGCCAAGGCAA	2116	UUGCCUUGGCCUGCGACGC		[497-515]
26	1538	AAGGGUGACAAGAUGCGAA	2117	UUCGCAUCUUGUCACCCUU	Rh,D	[1457-1475]
27	1539	CAAGCUGUUCUACGCCGAA	2118	UUCGGCGUAGAACAGCUUG	Rh	[1366-1384]
27	1540	CCUGCUAGUCAACGCCAUA	2119	UAUGGCGUUGACUAGCAGG	Rh	[823-841]
27	1541	CCAAGGGUGUGGUGGAGGA	2120	UCCUCCACCACACCCUUGG	Rh,D	[1149-1167]
27	1542	CACACAGGAUGGCAGGAGA	2121	UCUCCUGCCAUCUGUGUG	Rh	[1499-1517]
27	1543	UCCUGAGACACAUGGGUGA	2122	UCACCCAUGUGUCUCAGGA	D,Rt,M	[1529-1547]
27	1544	CUACAACUACUACGACGAA	2123	UUCGUCGUAGUAGUUGUAG	Rb	[955-973]
27	1545	GACAAGAUGCGAGACGAGA	2124	UCUCGUCUCGCAUCUUGUC	Rh,Rt	[1463-1481]
27	1546	CCUGGAAGCUGGGCAGCCA	2125	UGGCGUCCAGCUUCCAGG		[609-627]
27	1547	CUUCAAGCCACACUGGGAA	2126	UUCGAGUGUGGCUUGAAG	Rh,Rb,D	[844-862]
27	1548	GCGAGACGAGUUAUAGGGA	2127	UCCCUAUAACUCGUCUCGC	Rh	[1471-1489]
28	1549	GAAGCUGGGCAGCCGACUA	2128	UAGUCGGCUGCCAGCUUC		[613-631]
28	1550	GUGCCUGAGCGGACCUUCA	2129	UGAAGGUCCGCUAGGCAC	Rh	[1629-1647]
28	1551	GGUGACCCAUGACCUGCAA	2130	UUGCAGGUCAUGGGUCACC	Rh,Rt,M	[1165-1183]

28	1552	AUGAGCCUUUGUUGCUAUA	2131	UAUAGCAACAAAGGCUCAU	Rh	[2114-2132]
28	1553	CAACUACUACGACGACGAA	2132	UUCGUCGUCGUAGUAGUUG	Rb	[958-976]
28	1554	GCUGCGCUCACUCAGCAAA	2133	UUUGCUGAGUGAGCGCAGC	Rh	[571-589]
28	1555	GAGAACAUCUGGUGUCAAA	2134	UUGACACCAGGAUGUUCUC		[422-440]
28	1556	CCCAAGCUGUUCUACGCCA	2135	UGGCGUAGAACAGCUUGGG	Rh	[1364-1382]
28	1557	CAGCUCUAUCCCAACCUCA	2136	UGAGGUUGGGAUAGAGCU		[1886-1904]
28	1558	UGAGCUUCGUGAUGACUA	2137	UAGUCAUCAGCGAAGCUCA	Rh	[648-666]
29	1559	CCCAAGGCGGCCACGCUUA	2138	UAAGCGUGGCCGCCUUGGG	Rh	[341-359]
29	1560	CUAUACCGUGGGUGUCAUA	2139	UAUGACACCCACGGUAUAG	Rh	[916-934]
29	1561	CAUUGACAAGAACAAGGCA	2140	UGCCUUGUUCUUGUCAAU	Rh,D	[1216-1234]
29	1562	GGACCCAGCUCAGUGAGCA	2141	UGCUCACUGAGCUGGGUCC		[635-653]
29	1563	GACGACGAGAAGGAAAAGA	2142	UCUUUUCUUCUCGUCGUC	Rh	[968-986]
29	1564	GCGGCAAGGCGACCACGGA	2143	UCCGUGGUCGCCUUGCCGC		[480-498]
29	1565	GGGACACCCAAAGCGGCUA	2144	UAGCCGCUUUGGGUGUCCC		[1407-1425]
29	1566	GGGAGGUGAGGUACCAGCA	2145	UGCUGGUACCUCACCUC		[1562-1580]
29	1567	GCAGCACUACAACUGCGAA	2146	UUCGCAGUUGUAGUGCUGC	Rh,D	[682-700]
29	1568	GCGCAACGUGACCGGAAA	2147	UUUCCAGGUCACGUUGCGC	M	[598-616]
30	1569	GGGUGGGCCUGACUGAGA	2148	UCUCAGUCAGGCCAGCCC		[1196-1214]
30	1570	CCUGAGCGGACCUUCCCAA	2149	UUGGGAAGGUCCGCUCAGG	Rh	[1632-1650]
30	1571	GCAGCUGAAGAUCUGGAUA	2150	UAUCCAGAUUCUUCAGCUGC	Rh,D	[1093-1111]
30	1572	AGUGGAGAACAUCUGGUA	2151	UACCAGGAUGUUCUCCACU	Rh	[418-436]
30	1573	GCAAGCAGCACUACAACUA	2152	UAGUUGUAGUGCUGCUUGC	Rh,D	[678-696]
30	1574	AGCUCAGUGAGCUUCGCUA	2153	UAGCGAAGCUCACUGAGCU		[641-659]
30	1575	CCGACUUGUCACGCAUGUA	2154	UACAUGCGUGACAAGUCGG	Rh	[1233-1251]
30	1576	CCGAGGUCACCAAGGACGA	2155	UCGUCCUUGGUGACCUCGG	Rh,D	[786-804]
30	1577	GGAGCCUCUCGAGCGCCUA	2156	UAGGCGCUCGAGAGGCUCC		[1054-1072]
30	1578	GGCCGCGCAGACCACCGAA	2157	UUCGGUGGUCUGCGCGGCC		[757-775]
31	1579	GGAAACUCCACAUCUGUA	2158	UACAGGAUGUGGAGUUUCC	Rh	[1703-1721]
31	1580	CAAAGCGGCUCCUGCUAA	2159	UUAGCAGGAGCCGCUUUG		[1415-1433]
31	1581	GCUCUGAGACACAUGGGA	2160	UCCCAUGUGUCUCAGGAGC	D	[1527-1545]
31	1582	CCUGGGCCAUAUGUAUUA	2161	UGAAUGACUAUGGCCAGG		[1725-1743]
31	1583	CGUGGAGCCUCUCGAGCGA	2162	UCGCUCGAGAGGCUCCACG		[1051-1069]
31	1584	CCUCCUGCUUCUCAGCGCA	2163	UGCGCUGAGAAGCAGGAGG		[238-256]
31	1585	AGUCCAGAUCAAGCCUGA	2164	UCAGGCUUGAUCUGGGACU	Rh	[1756-1774]
31	1586	UACCGUGGGUGUCAUGUA	2165	UAUCAUGACACCCACGGUA	Rh	[919-937]
31	1587	GCCAGCCCUUCUCGACAA	2166	UUGUCAGAAGAGGGCUGGC		[1845-1863]
31	1588	CCGAGGUGAAGAAACCUGA	2167	UCAGGUUUCUUCACCUCGG	Rh,Rt	[285-303]
32	1589	UCCUGGCACUGCGGAGAAA	2168	UUUCUCCGACUGCCAGGA		[316-334]
32	1590	CCCGAAACUCCACAUCCA	2169	UGGAUGUGGAGUUUCCGGG		[1700-1718]
32	1591	ACUCUGGUCAAGAAGCAUA	2170	UAUGCUUCUUGACCAGAGU	Rh	[2014-2032]
32	1592	CCCAGAUACCAUGAUGCUA	2171	UAGCAUCAUGGUAUCUGGG	Rh	[1679-1697]
32	1593	CCUGAGACACAUGGGUGCA	2172	UGCACCAUGUGUCUCAGG	D,Rt,M	[1530-1548]
32	1594	GCACUACAACUGCGAGCAA	2173	UUGCUCGAGUUGUAGUGC	Rh,D	[685-703]
32	1595	CCACAAGAUGGUGGACAAA	2174	UUUGUCCACCAUCUUGUGG	Rh,Rb,M	[874-892]
32	1596	GGACACAGAUGGCAACCCA	2175	UGGGUUGCCAUCUGUGUCC		[1306-1324]
32	1597	GAAAAGCUGCUAACCAAAA	2176	UUUUGGUUAGCAGCUUUC		[1073-1091]

32	1598	ACUACAACUGCGAGCACUA	2177	UAGUGCUCGCAGUUGUAGU	Rh,D	[687-705]
33	1599	GCACUCCAAGAUAACUUA	2178	UAAGUUGAUCUUGGAGUGC	Rh,D	[700-718]
33	1600	GCCUUGAAAAGCUGCUAAA	2179	UUUAGCAGCUUUUCAAGGC		[1068-1086]
33	1601	GUGACUCGGUCCUAUACCA	2180	UGGUUAUAGGACCGAGUCAC	Rh	[905-923]
33	1602	GUGGUGGAGGUGACCAUA	2181	UAUGGGUCACCUCCACCAC	Rh,Rb,Rt	[1157-1175]
33	1603	AUGCGAGACGAGUUAUAGA	2182	UCUAUAACUCGUCUCGCAU	Rh	[1469-1487]
33	1604	ACCUUCCCAGCUAGAAUUA	2183	UAAUUCUAGCUGGGAAGGU	Rh	[1641-1659]
33	1605	CCCAGCUAGAAUUCACUA	2184	UGAGUGAAUUCUAGCUGGG	Rh	[1646-1664]
33	1606	GGUCACCAAGGACGUGGAA	2185	UUCACGUCUUGGUGACC	Rh,D	[790-808]
33	1607	GGCCUCAGGGUGCACACAA	2186	UUGUGUGCACCCUGAGGCC		[1487-1505]
33	1608	UGAGGUACCAGCCUUGGAA	2187	UCCAAGGCUGGUACCUC	Rh	[1568-1586]
34	1609	CAUGGUGACUCGGUCCUAA	2188	UUAGGACCGAGUCACCAUG	Rh	[901-919]
34	1610	GGUGAGGUACCAGCCUUGA	2189	UCAAGGCUGGUACCUCACC	Rh	[1566-1584]
34	1611	GCCGAGGUGAAGAAACCUA	2190	UAGGUUUCUUCACCUCGGC	Rh,Rt	[284-302]
34	1612	GUACGGACCCAGCUCAGUA	2191	UACUGAGCUGGGUCCGUAC		[631-649]
34	1613	CAAGAAGGACCUGUACCUA	2192	UAGGUACAGGUCCUUCUUG	Rh,D,M	[1255-1273]
34	1614	GAGCACUCCAAGAUAACA	2193	UGUUGAUCUUGGAGUGCUC	Rh,D	[698-716]
34	1615	CAUGUUCUUAAGCCACAA	2194	UUGUGGCUUGAAGAACAU	Rh,Rb,D	[838-856]
34	1616	CCUCCUGCUUCUCAGCGA	2195	UCGUGAGAAGCAGGAGGG		[237-255]
34	1617	AUGUCAGGCAAGAAGGACA	2196	UGUCCUUCUUGCCUGACAU	Rh,D	[1247-1265]
34	1618	CAAGAUCAACUUCGCGAA	2197	UUCGCGGAAGUUGAUCUUG	D	[706-724]
35	1619	GCGUGUCCACGCCACCGA	2198	UCGUGGCGUGGAACACGC		[1278-1296]
35	1620	CGGACCCAGCUCAGUGAGA	2199	UCUCACUGAGCUGGGUCCG		[634-652]
35	1621	CCUUCAGCUUGUACCAGGA	2200	UCCUGGUACAAGCUGAAGG		[381-399]
35	1622	GCUCUCCAGCCUCAUCAUA	2201	UAUGAUGAGGCUGGAGAGC	Rh,D,Rt	[1018-1036]
35	1623	CCUGGCCCCACAAGCUCUA	2202	UAGAGCUUGUGGGCCAGGG	Rh,D,P	[1005-1023]
35	1624	GCCCGAGGUCACCAAGGAA	2203	UUCUUGGUGACCUCGGGC	Rh,D	[784-802]
35	1625	GUGGAGAACAUCUGGUGA	2204	UCACCAGGAUGUUCUCCAC	Rh	[419-437]
35	1626	GCUCACUCAGCAACUCCAA	2205	UUGGAGUUGCUGAGUGAGC	Rh	[576-594]
35	1627	ACGCCAUGUUCUUAAGCA	2206	UGCUUGAAGAACAUGGCGU	Rh,Rb,P	[834-852]
35	1628	ACACAUGGGUGCUAUUGGA	2207	UCCAAUAGCACCCAUGUGU	Rh	[1536-1554]
36	1629	CCAGCUCAGUGAGCUUCGA	2208	UCGAAGCUCACUGAGCUGG		[639-657]
36	1630	CCCAGCUCAGUGAGCUUCA	2209	UGAAGCUCACUGAGCUGGG		[638-656]
36	1631	GGGCGGCAAGGCGACCACA	2210	UGUGGUCGCCUUGCCGCC		[478-496]
36	1632	CAGGGUGCACACAGGAUGA	2211	UCAUCCUGUGUGCACCCUG		[1492-1510]
36	1633	AGGUGAAGAAACCUGCAGA	2212	UCUGCAGGUUUCUUCACCU	Rh	[288-306]
36	1634	CCUCUCCCAACUAUAAAAA	2213	UUUUUAUAGUUGGGAGAG	Rh	[1900-1918]
36	1635	GACUGUACGGACCCAGCUA	2214	UAGCUGGGUCCGUACAGUC		[627-645]
36	1636	GAAGGAGCUCCAGGAGGA	2215	UCCUCCUGGGAGCUCCUUC		[1983-2001]
36	1637	ACGCAUGUCAGGCAAGAAA	2216	UUUCUUGCCUGACAUGCGU	Rh,D	[1243-1261]
36	1638	GACUCGGUCCUAUACCGUA	2217	UACGGUAUAGGACCGAGUC	Rh	[907-925]
37	1639	CACUACAACUGCGAGCACA	2218	UGUGCUCGCAGUUGUAGUG	Rh,D	[686-704]
37	1640	AGCUCCUGGCACUGCGGAA	2219	UUCGCGAGUGCCAGGAGCU		[313-331]
37	1641	CUAAGGGUGACAAGAUGCA	2220	UGCAUCUUGUCACCCUUA	Rh	[1455-1473]
37	1642	UGUGAGACCAAUUGAGCA	2221	UGCUCAAUUGGUCUCACA	Rh	[1816-1834]
37	1643	GCCGACUUGUCACGCAUGA	2222	UCAUGCGUGACAAGUCGGC	Rh	[1232-1250]

37	1644	CAGGAUGGCAGGAGGCAUA	2223	UAUGCCUCCUGCCAUCUG		[1503-1521]
37	1645	ACAAGAACAAGGCCGACUA	2224	UAGUCGGCCUUGUUCUUGU	Rh	[1221-1239]
37	1646	UGCGCUCCCUCCUGCUUCA	2225	UGAAGCAGGAGGGAGCGCA		[231-249]
37	1647	GGCGAGCUGCUGCGCUCAA	2226	UUGAGCGCAGCAGCUCGCC	Rh	[563-581]
37	1648	GAUGCACCGGACAGGCCUA	2227	UAGGCCUGUCCGGUGCAUC	Rh,Rb,Rt	[937-955]
38	1649	CGUGUCGCGUGGCGGCAAA	2228	UUUGCCGCCAGCGACACG		[469-487]
38	1650	AUCCCAACCUCUCCCAACA	2229	UGUUGGGAGAGGUUGGGA	Rh	[1893-1911]
38	1651	UGUUCUACGCCGACCACCA	2230	UGGUGGUCGCGCUAGAACA	Rh	[1371-1389]
38	1652	CGGCCUGGCCUUCAGCUUA	2231	UAAGCUGAAGGCCAGGCCG		[373-391]
38	1653	GUCGCAGGCCAAGGCAGUA	2232	UACUGCCUUGGCCUGCGAC		[499-517]
38	1654	AGUCAUUCUGCCUGCCCUA	2233	UAGGGCAGGCAGAAUGACU		[1735-1753]
38	1655	CCCAGAAUGACCUUGGCCGA	2234	UCGGCCAGGUCAUUCUGGG		[1949-1967]
38	1656	ACAAGAUGGUGGACAACCA	2235	UGGUUGUCCACCAUCUUGU	Rh,Rb,M	[876-894]
38	1657	GCUAGUCAACGCCAUGUUA	2236	UAACAUGGCGUUGACUAGC	Rh	[826-844]
38	1658	ACGCCACCGCCUUGAGUA	2237	UACUCAAAAGGCGUGGCGU	Rh	[1287-1305]
39	1659	GCCGCGCAGACCACCGACA	2238	UGUCGGUGGUCUGCGCGGC		[758-776]
39	1660	GCUAUUCAUUGGGCGCCUA	2239	UAGGCGCCCAAUGAAUAGC	D	[1429-1447]
39	1661	CUCAGUGAGCUUCGCUGAA	2240	UUCAGCGAAGCUCACUGAG		[643-661]
39	1662	GGAGGUGAGGUACCAGCCA	2241	UGGCUGGUACCUCACCUC		[1563-1581]
39	1663	GCCAAGGCAGUGCUGAGCA	2242	UGCUCAGCACUGCCUUGGC	Rh	[506-524]
39	1664	CUCUCCAGCCUCAUCAUA	2243	UGAUGAUGAGGCUGGAGA	Rh,D,Rt	[1019-1037]
39	1665	GAAUGACCUUGGCCGAGUA	2244	UACUGCGGCCAGGUCAUUC		[1953-1971]
39	1666	UGGUGACUCGUGCCUAUAA	2245	UUAUAGGACCGAGUCACCA	Rh	[903-921]
39	1667	CAGGUACCUUCUCACCUGA	2246	UCAGGUGAGAAGGUACCUG	Rh	[1800-1818]
39	1668	GUUCCACGCCACCGCCUUA	2247	UAAGGCGGUGGCGUGGAAC	D	[1282-1300]
40	1669	CCGACUGUACGGACCCAGA	2248	UCUGGGUCCGUACAGUCGG		[625-643]
40	1670	GCAGACCACCGACGGCAAA	2249	UUUGCCGUCGGUGGUCUGC	D,Rt	[763-781]
40	1671	AAGAUGCGAGACGAGUUA	2250	UUAACUCGUCUCGCAUCU	Rh	[1466-1484]
40	1672	CAAAGAGCAGCUGAAGUA	2251	UAUCUUCAGCUGCUCUUG	Rh	[1087-1105]
40	1673	ACGACGAGAAGGAAAAGCA	2252	UGCUIUUCCUUCUCGUCGU	Rh	[969-987]
40	1674	CACUCCACUUGGACAUGGA	2253	UCCAUGUCCAAGUGGAGUG	Rh	[1659-1677]
40	1675	AGUCCAUAACGAGUGGGA	2254	UCCACUCGUUGAUGGACU	Rh,Rt,M	[741-759]
40	1676	GCGCCGCGCCUGGCCUCAA	2255	UUGAAGGCCAGGCCGGCGC	Rh	[369-387]
40	1677	GGAAAAGCUGCAAAUCGUA	2256	UACGAUUUGCAGCUUUUCC	Rh	[979-997]
40	1678	ACAUUUUGUUGGAGCGUGA	2257	UCACGCUCCAACAAAUGU		[2184-2202]
41	1679	ACCGUGGCUUCAUGGUGAA	2258	UUCACCAUGAAGCCACGGU	Rh,Rt,M	[891-909]
41	1680	CCCUUCAUCUCCUAGUGA	2259	UCACUAGGAAGAUGAAGGG		[1388-1406]
41	1681	GAAAUUCCACCACAAGUA	2260	UAUCUUGUGGUGGAAUUC	Rh	[865-883]
41	1682	CUAUAAAACUAGGUGCUGA	2261	UCAGCACCAGUUUUUAUAG	Rh	[1910-1928]
41	1683	GGAGGUGCACGCCGCCUA	2262	UAGGCCGCGUGCACCUC		[544-562]
41	1684	GCAGGCCAAGGCAGUGCUA	2263	UAGCAGUCCUUGGCCUGC		[502-520]
41	1685	UGAGACCAAAUUGAGCUAA	2264	UUAGCUCAAUUUGGUCUCA	Rh	[1818-1836]
41	1686	GCCAUAGUCAUUCUGCCUA	2265	UAGGCAGAAUGACUAUGGC		[1730-1748]
41	1687	AGCUGAAGAUCUGGAUGGA	2266	UCCAUCAGAUUCUACGCU	Rh,D	[1095-1113]
41	1688	CCAUCUCCUUGCCCAAGGA	2267	UCCUUGGGCAAGGAGAUGG	Rh	[1137-1155]
42	1689	CCCAGAUCAAGCCUGCCUA	2268	UAGGCAGGCUUGAUCUGGG	Rh	[1759-1777]

42	1690	GCUGUUGCCAUCUCCUUGA	2269	UCAAGGAGAUGGCAACAGC		[1130-1148]
42	1691	CGAGGUCACCAAGGACGUA	2270	UACGUCCUUGGUGACCUCG	Rh,D	[787-805]
42	1692	CAACUAUAAAACUAGGUGA	2271	UCACCUAGUUUUUAUAGUUG	Rh	[1907-1925]
42	1693	GAAGGCUGUUGCCAUCUCA	2272	UGAGAUGGCAACAGCCUUC	Rt	[1126-1144]
42	1694	UGCGGAGAAGUUGAGCCCA	2273	UGGGCUCAACUUCUCCGCA		[325-343]
42	1695	CUCUUGCCCAAGGGUGUA	2274	UACACCCUUGGGCAAGGAG	Rh	[1141-1159]
42	1696	GCCCUGAAAGUCCCAGAUUA	2275	UAUCUGGGACUUUCAGGGC		[1748-1766]
42	1697	CAAGGGUGUGGUGGAGGUA	2276	UACCUCCACACACCCUUG	Rh,D	[1150-1168]
42	1698	AAGAGCAGCUGAAGAUCUA	2277	UAGAUCUUCAGCUGCUCU	Rh	[1089-1107]
43	1699	GAAGAUGCAGAAGAAGGCA	2278	UGCCUUCUUCUGCAUCUUC	Rh,Rb,Rt	[1114-1132]
43	1700	CGGAAACUCCACAUCUGA	2279	UCAGGAUGUGGAGUUUCCG		[1702-1720]
43	1701	AGUCAACGCCAUGUUCUUA	2280	UAAGAACAUGGCGUUGACU	Rh	[829-847]
43	1702	CGAGCGCCUUGAAAAGCUA	2281	UAGCUUUUCAAGGCGCUCG		[1063-1081]
43	1703	AUACCGUGGGUGUCAUGAA	2282	UUAUGACACCCACGGUAU	Rh	[918-936]
43	1704	GACCUGGGCCAUAUGUCAUA	2283	UAUGACUAUGGCCAGGUC		[1723-1741]
43	1705	CAUGUCAGGCAAGAAGGAA	2284	UUCUUCUUGCCUGACAUG	Rh,D	[1246-1264]
43	1706	UGCGAGACGAGUUAUAGGA	2285	UCCUAUAACUCGUCUCGCA	Rh	[1470-1488]
43	1707	CGCAACGUGACCUGGAAGA	2286	UCUCCAGGUCACGUUGCG		[599-617]
43	1708	AGCAAGCAGCACUACAACA	2287	UGUUGUAGUGCUGCUUGCU	Rh,D	[677-695]
44	1709	GCUGCUGCGCUCACUCAGA	2288	UCUGAGUGAGCGCAGCAGC	Rh	[568-586]
44	1710	UGAUGAUGCACCGGACAGA	2289	UCUGUCCGGUGCAUCAUCA	Rh	[933-951]
44	1711	UUGUUGCUAUCAAUCCAAA	2290	UUUGGAUUGAUAGCAACAA	Rh	[2122-2140]
44	1712	CCUUGAAAAGCUGCUAACA	2291	UGUUAAGCAGCUUUUCAAGG		[1069-1087]
44	1713	CCCUUUGACCAGGACAUA	2292	UGAUGUCCUGGUCAAAGGG	Rh,Rt	[1322-1340]
44	1714	GAGGUGAAGAAACCUGCAA	2293	UUGCAGGUUUCUUCACCUC	Rh	[287-305]
44	1715	CCCAAGGGUGUGGUGGAGA	2294	UCUCCACCACACCCUUGGG	Rh,D	[1148-1166]
44	1716	CCUGCUAUUCAUUGGGCA	2295	UGCCCAAUGAAUAGCAGGG	D	[1425-1443]
44	1717	CUGAAAGUCCCAGAUCAAA	2296	UUUGAUCUGGGACUUUCAG		[1751-1769]
44	1718	GCUGCAAAUCGUGGAGAUUA	2297	UAUCUCCACGAUUUGCAGC	Rh	[985-1003]
45	1719	CAAGCCUGCCUCAUUCAGA	2298	UCUGAUUGAGGCAGGCUUG	Rh	[1766-1784]
45	1720	CGAGCAGCUGCGCGACGAA	2299	UUCGUCGCGCAGCUGCUCG		[526-544]
45	1721	AGGCCGACUUGUCACGCAA	2300	UUGCGUGACAAGUCGGCCU	Rh	[1230-1248]
45	1722	GCAGCAGCUCCUGGCACUA	2301	UAGUGCCAGGAGCUGCUGC		[308-326]
45	1723	GGCCAUAUGCAUUCUGCCA	2302	UGGCAGAAUGACUAUGGCC		[1729-1747]
45	1724	CCCGUGUGCCUGAGCGGAA	2303	UUCGCUACAGGCACACGGG	Rh	[1624-1642]
45	1725	CAGCUGAAGAUCUGGAUGA	2304	UCAUCCAGAUCUUCAGCUG	Rh,D	[1094-1112]
45	1726	CAAGCCACACUGGGAUGAA	2305	UUCAUCCAGUGUGGCUUG	Rh,Rb	[847-865]
45	1727	GAAUUCACUCCACUUGGAA	2306	UCCAAGUGGAGUGAAUUC	Rh	[1654-1672]
45	1728	CGGCGCCUGCUAGUCAAA	2307	UUUGACUAGCAGGGCGCCG	Rh	[817-835]
46	1729	UGGAAGCUGGGCAGCCGAA	2308	UUCGGCUGCCAGCUUCCA		[611-629]
46	1730	GGCAAGGCGACCACGGCGA	2309	UCGCCGUGGUCGCCUUGCC	Rh	[482-500]
46	1731	CACUGCGGAGAAGUUGAGA	2310	UCUCAACUUCUCCGCAGUG		[322-340]
46	1732	GGCAGGAGGCAUCCAAAGA	2311	UCUUUGGAUGCCUCCUGCC		[1509-1527]
46	1733	GGUGACUCGGUCCUAUACA	2312	UGUAUAGGACCGAGUCACC	Rh	[904-922]
46	1734	UUUAUAGCCAGGUACCUUA	2313	UAAGGUACCUGGCUAUAUA	Rh	[1792-1810]
46	1735	GGCCAUGGCCAAGGACCAA	2314	UUGGUCCUUGGCCAUGGCC	Rh,D	[397-415]

46	1736	CAAAGAUAGGGAGGGAAGA	2315	UCUCCCCUCCUAUCUUUG		[2089-2107]
46	1737	UCUUCUGACACUAAAACAA	2316	UUGUUUUAGUGUCAGAAG		[1853-1871]
46	1738	CUUCUGACACUAAAACACA	2317	UGUGUUUUAGUGUCAGAA		[1854-1872]
47	1739	UCACGUGGAGCCUCUCGAA	2318	UUCGAGAGGCCUCCACGUGA		[1048-1066]
47	1740	CAGUCCAUAACGAGUGGA	2319	UCCACUCGUUGAUGGACUG	Rh,Rt,M	[740-758]
47	1741	AGACCAAAUUGAGCUAGGA	2320	UCCUAGCUCAAUUUGGUCU		[1820-1838]
47	1742	GGGUUCCCGUGUGCCUGAA	2321	UUCAGGCACACGGGAACCC	Rh	[1619-1637]
47	1743	UUGCUAUCAAUCCAAGAAA	2322	UUUCUUGGAUUGAUAGCAA	Rh	[2125-2143]
47	1744	CAACCGUGGCUUCAUGGUA	2323	UACCAUGAAGCCACGGUUG	Rh,Rt,M	[889-907]
47	1745	CUGUACGGACCCAGCUCAA	2324	UUGAGCUGGGUCCGUACAG		[629-647]
47	1746	CAGCAGCAAGCAGCACUAA	2325	UUAGUGCUGCUUGCUGCUG	Rh,D	[673-691]
47	1747	CCUGCAGCCGCAGCAGCUA	2326	UAGCUGCUGCGGCUGCAGG		[299-317]
47	1748	GACACUAAAACACCUCAGA	2327	UCUGAGGUGUUUUAGUGUC		[1859-1877]
48	1749	CAACUGCGAGCACUCCAAA	2328	UUUGGAGUGCUCGCAGUUG	Rh,D	[691-709]
48	1750	ACUGCGGAGAAGUUGAGCA	2329	UGCUCAAUCUCCCGCAGU		[323-341]
48	1751	GCGCCUGCUAGUCAACGA	2330	UCGUUGACUAGCAGGGCGC	Rh	[819-837]
48	1752	GGAAGCUGGGCAGCCGACA	2331	UGUCGGCUGCCCAGCUUCC		[612-630]
48	1753	AGGCUCCUGAGACACAUGA	2332	UCAUGUGUCUCAGGAGCCU	D	[1525-1543]
48	1754	CGACAAGCGCAGCGCGCUA	2333	UAGCGCGCUGCGCUUGUCG		[721-739]
48	1755	UCAGUGAGCUUCGCUGAUA	2334	UAUCAGCGAAGCUCACUGA		[644-662]
48	1756	UUGAGAAGGAGCUCCAGAA	2335	UCUGGGAGCUCCUUCUCAA		[1979-1997]
48	1757	ACUGCGAGCACUCCAAGAA	2336	UUCUUGGAGUGCUCGCAGU	Rh,D	[693-711]
48	1758	CAUCCUGGUGUCACCCGUA	2337	UACGGGUGACACCAGGAUG		[427-445]
49	1759	GUGCGCAGCAGCAAGCAGA	2338	UCUGCUUGCUGCUGCGCAC	Rh,D	[668-686]
49	1760	CACGCCACCGCCUUUGAGA	2339	UCUCAAAAGCGGUGGCGUG	Rh	[1286-1304]
49	1761	UCUCGAGCGCCUUGAAAAA	2340	UUUUUCAAGGCGCUCGAGA		[1060-1078]
49	1762	GCUUCGCUGAUGACUUCGA	2341	UCGAAGUCAUCAGCGAAGC	Rh	[651-669]
49	1763	UCUCCUUGCCCAAGGUGA	2342	UCACCCUUGGGCAAGGAGA	Rh	[1140-1158]
49	1764	GCAGUCCAUAACGAGUGA	2343	UCACUCGUUGAUGGACUGC	Rh,Rt,M	[739-757]
49	1765	AGAUGGUGGACAACCGUGA	2344	UCACGGUUGUCCACCAUCU	Rh,M	[879-897]
49	1766	CGGCUCCUGCUAUUCAUA	2345	UAUGAAUAGCAGGGAGCCG		[1420-1438]
49	1767	AUACCAUGAUGCUGAGCCA	2346	UGGCUAGCAUCAUGGUUAU		[1684-1702]
49	1768	AGCCAGGUACCUUCUCACA	2347	UGUGAGAAGGUACCUUGGCU	Rh	[1797-1815]
50	1769	GAGCCCGGAAACUCCACAA	2348	UUGUGGAGUUUCCGGGCUC		[1697-1715]
50	1770	GCAGCUCUGGCACUGCGA	2349	UCGCAGUGCCAGGAGCUGC		[311-329]
50	1771	CCCGAGGUCACCAAGGACA	2350	UGUCCUUGGUGACCUCGGG	Rh,D	[785-803]
50	1772	CCUGACUGAGGCCAUUGAA	2351	UUCAAUGGCCUCAGUCAGG	Rh	[1204-1222]
50	1773	UGCUGAGCCCGGAAACUCA	2352	UGAGUUUCCGGGCUCAGCA		[1693-1711]
50	1774	GCCAUCUCCUUGCCCAAGA	2353	UCUUGGGCAAGGAGAUGGC	Rh	[1136-1154]
50	1775	CAAGCAGCACUACAACUGA	2354	UCAGUUGUAGUGCUGCUUG	Rh,D	[679-697]
50	1776	CAAGGCAGUGCUGAGCGCA	2355	UGCGCUCAGCACUGCCUUG	Rh	[508-526]
50	1777	CAAUGACAUUUUGUUGGAA	2356	UUCEAACAAAUGUCAUUG		[2179-2197]
50	1778	AGUGAGCUUCGCUGAUGAA	2357	UUCAUCAGCGAAGCUCACU		[646-664]
51	1779	AUGAUGAUGCACCGGACAA	2358	UUGUCCGGUGCAUCAUCAU	Rh	[932-950]
51	1780	GAAACACCUUGGCUGGGCUA	2359	UAGCCAGCCAGGUGUUUC	D	[1183-1201]
51	1781	CCUGCUAUUCAUUGGGCGA	2360	UCGCCCAAUGAAUAGCAGG	D	[1426-1444]

51	1782	CGCCACCGCCUUGAGUUA	2361	UAACUCAAAGGCGGUGGCG	Rh	[1288-1306]
51	1783	GCUUCUCAGCGCCUUCUGA	2362	UCAGAAGGCGCUGAGAAGC		[244-262]
51	1784	UGAUGCUGAGCCCGGAAAA	2363	UUUCCGGGCGCUCAGCAUCA		[1690-1708]
51	1785	UGACCUGGCCGCAGUGAGA	2364	UCUCACUGCGGCCAGGUCA		[1956-1974]
51	1786	UGCAGAAACACCUGGCUGA	2365	UCAGCCAGGUGUUUCUGCA		[1179-1197]
51	1787	GCAGUGCUGAGCGCCGAGA	2366	UCUCGGCGCUCAGCACUGC		[512-530]
51	1788	CGGCGCGCAACGUGACCUA	2367	UAGGUCACGUUGCGCGCCG		[594-612]
52	1789	AGUGCUGAGCGCCGAGCAA	2368	UUGCUCGGCGCUCAGCACU		[514-532]
52	1790	ACAGGCCUCUACAACUACA	2369	UGUAGUUGUAGAGGCCUGU	Rh,Rb,D,	[947-965]
52	1791	GCAGCUGCGCGACGAGGAA	2370	UUCUCUGCGCGCAGCUGC	Rh,D	[529-547]
52	1792	AUUGAGAAGGAGCUCCAA	2371	UUGGGAGCUCCUUCUCAAU		[1978-1996]
52	1793	CGCGCAGACCACCGACGGA	2372	UCCGUCGGUGGUCUGCGCG		[760-778]
52	1794	CCUGUACCUGGCCAGCGUA	2373	UACGCUGGCCAGGUACAGG	Rh	[1264-1282]
52	1795	CUGAGCGGACCUUCCAGGA	2374	UCUGGGAAGGUCCGCUAG	Rh	[1633-1651]
52	1796	GGCCUUCAGCUUGUACCAA	2375	UUGGUACAAGCUGAAGGCC		[379-397]
52	1797	CACCCAAAGCGGCUCUCCUA	2376	UAGGGAGCCGCUUUGGGUG		[1411-1429]
52	1798	GCCAAGGACCAGGCAGUGA	2377	UCACUGCCUGGUCCUUGGC	Rh	[404-422]
53	1799	CUCAGGGUGCACACAGGAA	2378	UUCUGUGUGCACCUCUGAG		[1490-1508]
53	1800	CGAGCUGCUGCGCUCACUA	2379	UAGUGAGCGCAGCAGCUCG	Rh	[565-583]
53	1801	GGCUGGGCCUGACUGAGGA	2380	UCCUCAGUCAGGCCAGCC		[1197-1215]
53	1802	CCGCAGCAGCUCCUGGCAA	2381	UUGCCAGGAGCUGCUGCGG		[306-324]
53	1803	UGUGGGACCUGGGCCAUA	2382	UUAUGGCCAGGUCCACA		[1718-1736]
53	1804	AAGAUGCAGAAGAAGGCUA	2383	UAGCCUUCUUCUGCAUCUU	Rh,Rt,M	[1115-1133]
53	1805	CCACGGCGCGCAACGUGAA	2384	UUCACGUUGCGCGCCGUGG	Rh	[591-609]
53	1806	ACCUUCUCACCUGUGAGAA	2385	UUCUCACAGGUGAGAAGGU	Rh	[1805-1823]
53	1807	UGAAGAAACCUGCAGCCGA	2386	UCGGCUGCAGGUUCUUCA		[291-309]
53	1808	CAGCACUACAACUGCGAGA	2387	UCUCGCAGUUGUAGUGCUG	Rh,D	[683-701]
54	1809	GCGACAAGCGCAGCGCGCA	2388	UGCGCGCUGCGCUUGUCGC		[720-738]
54	1810	UAGAAUUCACUCCACUUGA	2389	UCAAGUGGAGUGAAUUCUA	Rh	[1652-1670]
54	1811	GUGGAAAAACAGACCGGGA	2390	UCCCGGUCUGUUUUUCCAC		[1603-1621]
54	1812	ACGUGGAGCCUCUCGAGCA	2391	UGCUCGAGAGGCUCCACGU		[1050-1068]
54	1813	GGCGCGCAACGUGACCUGA	2392	UCAGGUCACGUUGCGCGCC		[595-613]
54	1814	UGGACAACCGUGGCUUCAA	2393	UUGAAGCCACGGUUGUCCA	Rh,M	[885-903]
54	1815	CUAGUCAACGCCAUGUUCA	2394	UGAACAUUGCGUUGACUAG	Rh	[827-845]
54	1816	AGAAUGACCUGGCCGCGAGA	2395	UCUGCGGCCAGGUCAUUCU		[1952-1970]
54	1817	AGCUGCUGCGCUCACUCAA	2396	UUGAGUGAGCGCAGCAGCU	Rh	[567-585]
54	1818	CUCUAUCCCAACCUCUCCA	2397	UGGAGAGGUUGGGAUAGA	Rh	[1889-1907]
55	1819	GCGAGCUGCUGCGCUCACA	2398	UGUGAGCGCAGCAGCUCGC	Rh	[564-582]
55	1820	CGCAGCAGCAAGCAGCACA	2399	UGUGCUGCUUGCUGCUGCG	Rh,D	[671-689]
55	1821	GGCUGGGCUGGGCCUGACA	2400	UGUCAGGCCAGCCAGCC		[1192-1210]
55	1822	UCUCCAGCCUCAUCAUCCA	2401	UGGAUGAUGAGGCUGGAG	Rh,D,Rt,	[1020-1038]
55	1823	CAACGCCAUGUUCUCAA	2402	UUUGAAGAACAUGGCGUUG	Rh,Rb,P	[832-850]
55	1824	UGGCACUGCGGAGAAGUUA	2403	UAACUUCUCCGAGUGCCA		[319-337]
55	1825	UUUGAGUUGGACACAGUA	2404	UAUCUGUGUCCAACUCAA		[1298-1316]
55	1826	UGGGCGAGCUGCUGCGCUA	2405	UAGCGCAGCAGCUCGCCA	Rh	[561-579]
55	1827	CUGCUAACCAAAGAGCAGA	2406	UCUGCUCUUUGGUUAGCAG		[1079-1097]

55	1828	AACGUGACCUGGAAGCUGA	2407	UCAGCUUCCAGGUCACGUU		[602-620]
56	1829	AUGACAUUUUGUUGGAGCA	2408	UGCUCCAACAAAUGUCAU		[2181-2199]
56	1830	CAGGAGGCAUCCAAAGGCA	2409	UGCCUUUGGAUGCCUCCUG		[1511-1529]
56	1831	AUCUCCUUGCCCAAGGGUA	2410	UACCCUUGGGCAAGGAGAU	Rh	[1139-1157]
56	1832	UGGGAUGAGAAAUUCCACA	2411	UGUGGAAUUCUCAUCCCA	Rh	[857-875]
56	1833	AAAGCUGCUAACCAAAGAA	2412	UUCUUUGGUUAGCAGCUUU		[1075-1093]
56	1834	AGGAGGCAUCCAAAGGCUA	2413	UAGCCUUUGGAUGCCUCCU		[1512-1530]
56	1835	CACCGCCUUUGAGUUGGAA	2414	UCCAACUCAAAGGCGGUG	Rh	[1291-1309]
56	1836	CCAACUAUAAAACUAGGUA	2415	UACCUAGUUUAUAGUUGG	Rh	[1906-1924]
56	1837	CAAGAAGCAUCGUGUCUGA	2416	UCAGACACGAUGCUUCUUG	Rh	[2022-2040]
56	1838	AGCAGCUGAAGAUCUGGAA	2417	UCCAGAUCUUCAGCUGCU	Rh,D	[1092-1110]
57	1839	GCGCUCCUCCUGCUUCUA	2418	UAGAAGCAGGAGGGAGCGC		[232-250]
57	1840	UGCUAGUCAACGCCAUGUA	2419	UACAUGGCGUUGACUAGCA	Rh	[825-843]
57	1841	CGCCGAGCAGCUGCGCGAA	2420	UUCGCGCAGCUGCUCGGCG		[523-541]
57	1842	CCGCGCAGACCACCGACGA	2421	UCGUCGGUGGUCUGCGCG		[759-777]
57	1843	UAGCCAGGUACCUUCUCAA	2422	UUGAGAAGGUACCUUGCUA	Rh	[1796-1814]
57	1844	UGCUUCUCAGCGCCUUCUA	2423	UAGAAGGCGCUGAGAAGCA		[243-261]
57	1845	CUCCUCCUGCUUCUCAGA	2424	UCUGAGAAGCAGGAGGGAG		[235-253]
57	1846	CGCAGGCCAAGGCAGUGCA	2425	UGCACUGCCUUGGCCUGCG		[501-519]
57	1847	GCAAGGCGACCACGGCGUA	2426	UACGCCGUGGUCGCCUUGC	Rh	[483-501]
57	1848	GCAGCCGCAGCAGCUCCUA	2427	UAGGAGCUGCUGCGGCUGC		[302-320]

Tabla E: ARNic de 18+1 unidades interespecie de SERPINH1

No.	SEQ ID NO	ARNic codificante	SEQ	ARNic anticodificante	Ofros	humano
1	2428	UCACCAAGGACGUGGAGCA	2576	UGCUCACGUCCUUGGU	Rh,D	[792-810]
2	2429	CAGCGCGCUGCAGUCCAUA	2577	UAUGGACUGCAGCGCGC	Rh,Rt	[730-748]
3	2430	CAUCUACGGGCGCGAGGAA	2578	UUCUUCGCGCCCGUAGA	D,M	[1336-1354]
4	2431	CUCCAGCCUCAUCAUCCUA	2579	UAGGAUGAUGAGGCUUG	Rh,D,Rt,M	[1021-1039]
5	2432	GACAUUCACGGGCGCGAGA	2580	UCUCGCGCCCGUAGAUG	D,M	[1334-1352]
6	2433	CGUGCGCAGCAGCAAGCAA	2581	UUGCUUGCUGCUGCGCA	Rh,D,M	[667-685]
7	2434	GUCACCAAGGACGUGGAGA	2582	UCUCCACGUCCUUGGUG	Rh,D	[791-809]
8	2435	CCGCGACAAGCGCAGCGCA	2583	UGCUGCGCUUGUCGC	D	[718-736]
9	2436	GCGCAGCGCGCUGCAGUCA	2584	UGACUGCAGCGCGCUGC	Rh,Rt	[727-745]
10	2437	GGCCCAACAAGCUCUCCAGA	2585	UCUGGAGAGCUUGUGGG	Rh,D,P	[1009-1027]
11	2438	CAAGGACGUGGAGCGCACA	2586	UGUGCGCUCCACGUCCU	Rh,D	[796-814]
12	2439	AGCCUCAUCAUCCUCAUGA	2587	UCAUGAGGAUGAUGAGG	Rh,D,Rt,M	[1025-1043]
13	2440	GGUGUGGUGGAGGUGACCA	2588	UGGUCACCUCCACCACA	Rh,D	[1154-1172]
14	2441	GCAAGCUGCCCGAGGUCAA	2589	UUGACCUCGGGAGCUU	Rh,D	[777-795]
15	2442	GUGGAGGUGACCAUGACA	2590	UGUCAUGGGUACCUCC	Rh,Rt,M	[1160-1178]
16	2443	CACAAGAUGGUGGACAACA	2591	UGUUGUCCACCAUCUUG	Rh,Rb,M,P	[875-893]
17	2444	GCGAGGAGCUGCGCAGCCA	2592	UGGUCGCGCAGCUCCUC	D,M	[1347-1365]
18	2445	UACUACGACGACGAGAAGA	2593	UCUUCUCGUCGUCGUAG	Rb	[962-980]
19	2446	GAGGUGACCAUGACCUGA	2594	UCAGGUCAUGGGUACCC	Rh,Rt,M	[1163-1181]

20	2447	ACUUCGCGACAAGCGCAA	2595	UUGCGCUUGUCGCGGAA	D	[714-732]
21	2448	GCCCACAAGCUCUCCAGCA	2596	UGCUGGAGAGCUUGUGG	Rh,D,P	[1010-1028]
22	2449	GCGCAGCAGCAAGCAGCAA	2597	UUGCUGCUUGCUGCUGC	Rh,D	[670-688]
23	2450	CGAGGAGCUGCGCAGCCCA	2598	UGGGCUGCGCAGCUCCU	D,M	[1348-1366]
24	2451	AACGCCAUGUUCUUAAGA	2599	UCUUGAAGAACAUGGCG	Rh,Rb,P	[833-851]
25	2452	GUCAGGCAAGAAGGACCUA	2600	UAGGUCCUUCUUGCCUG	Rh,D	[1249-1267]
26	2453	GCCUGGGCGAGCUGCUGCA	2601	UGCAGCAGCUCGCCAG	Rh,D	[558-576]
27	2454	GAUGAUGCACCGGACAGGA	2602	UCCUGUCCGGUGCAUCA	Rh,Rb,Rt,M	[934-952]
28	2455	GGACCUGUACCUGGCCAGA	2603	UCUGGCCAGGUACAGGU	Rh,D	[1261-1279]
29	2456	GCGACGAGGAGGUGCACGA	2604	UCGUGCACCUCUCGUC	D	[537-555]
30	2457	UGUGGUGGAGGUGACCCAA	2605	UUGGGUACCUCACCA	Rh,D	[1156-1174]
31	2458	UUAAGCCACACUGGGUA	2606	UAUCCAGUGUGGCUUG	Rh,Rb	[845-863]
32	2459	CAAGAUGGUGGACAACCGA	2607	UCGGUUGUCCACCAUCU	Rh,Rb,M,P	[877-895]
33	2460	UCAACUUCGCGACAAGCA	2608	UGCUGUCGCGGAAGUU	D	[711-729]
34	2461	AUUAUUGGGCGCCUGUA	2609	UACCAGGCGCCAAUGA	D	[1432-1450]
35	2462	CUCCAAGAUAACUCCGA	2610	UCGGAAGUUGAUCUUGG	Rh,D,Rt,M	[703-721]
36	2463	CAGGCCAUGGCCAAGGACA	2611	UGUCCUUGGCCAUGGCC	Rh,D	[395-413]
37	2464	GUACCAGGCCAUGGCCAAA	2612	UUUGGCCAUGGCCUGGU	Rh,D	[391-409]
38	2465	UGUCAGGCAAGAAGGACCA	2613	UGGUCCUUCUUGCCUGA	Rh,D	[1248-1266]
39	2466	CUUCGUGCGCAGCAGCAA	2614	UUUGCUGCUGCGCACGA	Rh,D,M	[664-682]
40	2467	CAACUUCGCGACAAGCGA	2615	UCGCUUGUCGCGGAAGU	D	[712-730]
41	2468	CCACCACAAGAUGGUGGAA	2616	UUCCACCAUCUUGUGGU	Rh,Rb,D,P	[871-889]
42	2469	GCGCGACGAGGAGGUGCAA	2617	UUGCACCUCUCGUCGC	Rh,D	[535-553]
43	2470	CUACAACUGCGAGCACUCA	2618	UGAGUGCUCGCAGUUGU	Rh,D	[688-706]
44	2471	UGGAGGUGACCCAUGACCA	2619	UGGUCAUGGGUCACCUC	Rh,Rt,M	[1161-1179]
45	2472	GAGGUCACCAAGGACGUGA	2620	UCACGUCCUUGGUGACC	Rh,D	[788-806]
46	2473	AAGAAGGACCUGUACCUGA	2621	UCAGGUACAGGUCCUUC	Rh,D	[1256-1274]
47	2474	GACAACCGUGGCUUAUGA	2622	UCAUGAAGCCACGGUUG	Rh,Rt,M	[887-905]
48	2475	ACCAGGACAUCUACGGGCA	2623	UGCCCGUAGAUGUCCUG	D,Rt	[1329-1347]
49	2476	GCUGCCCGAGGUCACCAA	2624	UUUGGUGACCUCGGGCA	Rh,D	[781-799]
50	2477	AUGCAGAGAAGGCUGUUA	2625	UAAACAGCCUUCUUCUGC	Rt	[1118-1136]
51	2478	GGCCUGGGCGAGCUGCUGA	2626	UCAGCAGCUCGCCAGG	Rh,D	[557-575]
52	2479	GAUGGUGGACAACCGUGGA	2627	UCCACGGUUGUCCACCA	Rh,M	[880-898]
53	2480	CUCCUGCUAUUCAUUGGA	2628	UCCAUGAAUAGCAGGG	D	[1423-1441]
54	2481	GAAGGACCUGUACCUGGCA	2629	UGCCAGGUACAGGUCCU	Rh,D	[1258-1276]
55	2482	CCACCGACGCAAGCUGCA	2630	UGCAGCUUGCCGUCGGU	D,Rt	[768-786]
56	2483	UGCUAUUCAUUGGGCGCCA	2631	UGGCGCCCAAUGAAUAG	D	[1428-1446]
57	2484	AUGUUCUUAAGCCACACA	2632	UGUGUGGCUUGAAGAAC	Rh,Rb,D	[839-857]
58	2485	CCAGGACAUCUACGGGCGA	2633	UCGCCCUGAUGUCCU	D,Rt	[1330-1348]
59	2486	GCGCGAGGAGCUGCGCAGA	2634	UCUGCGCAGCUCUCGC	Rh,D,M	[1345-1363]
60	2487	GAGCAGCUGCGCAGCAGA	2635	UCUCGUCGCGCAGCUGC	Rh,D	[527-545]
61	2488	CUAUUCAUUGGGCGCCUGA	2636	UCAGGCGCCCAAUGAAU	D	[1430-1448]
62	2489	ACAAGCUCUCCAGCCUCAA	2637	UUGAGGCUGGAGAGCUU	Rh,D,M,P	[1014-1032]
63	2490	GCUGAAGAUCUGGAUGGGA	2638	UCCCAUCCAGAUCUUCA	Rh,D	[1096-1114]
64	2491	GACCAGGACAUCUACGGGA	2639	UCCCGUAGAUGUCCUGG	D,Rt	[1328-1346]
65	2492	CAAGCGCAGCGCGCUGCAA	2640	UUGCAGCGCGCUGCGCU	Rh,Rt	[724-742]

66	2493	CCAUGGCCAAGGACCAGGA	2641	UCCUGGUCCUUGGCCAU	Rh,D	[399-417]
67	2494	CACCAAGGACGUGGAGCGA	2642	UCGCUCCACGUCCUUGG	Rh,D	[793-811]
68	2495	CCGUGGCUUCAUGGUGACA	2643	UGUCACCAUGAAGCCAC	Rh,Rt,M	[892-910]
69	2496	UGACCAGGACAUCUACGGA	2644	UCCGUAGAUGUCCUGGU	Rt	[1327-1345]
70	2497	AGACCACCGACGGCAAGCA	2645	UGCUUGCCGUCGGUGGU	D,Rt	[765-783]
71	2498	GACAAGCGCAGCGCGCUGA	2646	UCAGCGCGCUGCGCUUG	Rh,Rt	[722-740]
72	2499	AGAAACACCUGGCUGGGCA	2647	UGCCCAGCCAGGUGUUU	D	[1182-1200]
73	2500	AAGAUGGUGGACAACCGUA	2648	UACGGUUGUCCACCAUC	Rh,M	[878-896]
74	2501	CAGACCACCGACGGCAAGA	2649	UCUUGCCGUCGGUGGUC	D,Rt	[764-782]
75	2502	AGGACCUGUACCUGGCCAA	2650	UUGGCCAGGUACAGGUC	Rh,D	[1260-1278]
76	2503	CUGCUAUUCAUUGGGCGCA	2651	UGC GCCAAUGAAUAGC	D	[1427-1445]
77	2504	GUCCAUCAACGAGUGGGCA	2652	UGCCCACUCGUUGAUGG	Rh,Rt,M	[742-760]
78	2505	CCAGGCCAUGGCCAAGGAA	2653	UUCUUGGCCAUGGCCU	Rh,D	[394-412]
79	2506	AAGCAGCACUACAACUGCA	2654	UGCAGUUGUAGUGCUGC	Rh,D	[680-698]
80	2507	UGUUCCACGCCACCGCCUA	2655	UAGGCGGUGGCGUGGAA	D	[1281-1299]
81	2508	UACAACUACUACGACGACA	2656	UGUCGUCGUAGUAGUUG	Rb	[956-974]
82	2509	CCUCAUCAUCCUCAUGCCA	2657	UGGCAUGAGGAUGAUGA	Rh,D,Rt,M	[1027-1045]
83	2510	UGGUGGACAACCGUGGCUA	2658	UAGCCACGGUUGUCCAC	Rh,M	[882-900]
84	2511	GACCACCGACGGCAAGCUA	2659	UAGCUUGCCGUCGGUGG	D,Rt	[766-784]
85	2512	AGCUGCGCGACGAGGAGGA	2660	UCCUCUCGUCGCGCAG	Rh,D	[531-549]
86	2513	CGGCAAGCUGCCCCGAGGUA	2661	UACCUCGGGCAGCUUGC	Rh,D	[775-793]
87	2514	UGGCCCACAAGCUCUCCAA	2662	UUGGAGAGCUUGUGGGC	Rh,D,P	[1008-1026]
88	2515	CAGCUGCGCGACGAGGAGA	2663	UCUCCUCGUCGCGCAGC	Rh,D	[530-548]
89	2516	CUUCCGCGACAAGCGCAGA	2664	UCUGCGCUUGUCGCGGA	D	[715-733]
90	2517	UGGGCCUGACUGAGGCCAA	2665	UUGGCCUCAGUCAGGCC	Rt	[1200-1218]
91	2518	GCUGCGCGACGAGGAGGUA	2666	UACCUCUCGUCGCGCA	Rh,D	[532-550]
92	2519	CAGGACAUCUACGGGCGCA	2667	UGC GCCCGUAGAUGUCC	D	[1331-1349]
93	2520	GCCAUGGCCAAGGACCAGA	2668	UCUGGUCCUUGGCCAUG	Rh,D	[398-416]
94	2521	UCCAAGAUAACUCCGCA	2669	UGC GGAAGUUGAUCUUG	D	[704-722]
95	2522	ACCACCGACGGCAAGCUGA	2670	UCAGCUUGCCGUCGGUG	D,Rt	[767-785]
96	2523	AUCUACGGGCGCGAGGAGA	2671	UCUCCUCGCGCCCGUAG	D,M	[1337-1355]
97	2524	CUGCCCGAGGUCACCAAGA	2672	UCUUGGUGACCUCGGGC	Rh,D	[782-800]
98	2525	AUCAACUCCGCGACAAGA	2673	UCUUGUCGCGGAAGUUG	D	[710-728]
99	2526	UCAUUGGGCGCCUGGUCCA	2674	UGGACCAGGCGCCCAAU	Rh,D	[1434-1452]
100	2527	CAUUGGGCGCCUGGUCCGA	2675	UCGGACCAGGCGCCCAA	Rh,D	[1435-1453]
101	2528	GUGUUCCACGCCACCGCCA	2676	UGGCGGUGGCGUGGAAC	D	[1280-1298]
102	2529	AUGAUGCACCAGGACAGGCA	2677	UGCCUGUCCGGUGCAUC	Rh,Rb,Rt,M	[935-953]
103	2530	CGACGAGGAGGUGCACGCA	2678	UGC GUGCACCUCUCGU	D	[538-556]
104	2531	CAGAAACACCUGGCUGGGA	2679	UCCCAGCCAGGUGUUUC	D	[1181-1199]
105	2532	UGAUGCACCGGACAGGCCA	2680	UGGCCUGUCCGGUGCAU	Rh,Rb,Rt,M	[936-954]
106	2533	AAGGCUGUUGCCAUCUCCA	2681	UGGAGAUGGCAACAGCC	D,Rt	[1127-1145]
107	2534	AUGACUUCGUGCGCAGCAA	2682	UUGCUGCGCACGAAGUC	Rh,Rt,M	[660-678]
108	2535	UCAGGCAAGAAGGACCUGA	2683	UCAGGUCCUUCUUGCCU	Rh,D	[1250-1268]
109	2536	CUCAUCAUCCUCAUGCCCA	2684	UGGGCAUGAGGAUGAUG	Rh,Rt,M	[1028-1046]
110	2537	CGCGACGAGGAGGUGCACA	2685	UGUGCACCUCUCGUCG	Rh,D	[536-554]
111	2538	ACAACCGUGGCUUCAUGGA	2686	UCCAUGAAGCCACGGUU	Rh,Rt,M	[888-906]

112	2539	UUGACCAGGACAUCUACGA	2687	UCGUAGAUGUCCUGGUC	Rt	[1326-1344]
113	2540	CAAGCUGCCCGAGGUCACA	2688	UGUGACCUCGGGCAGCU	Rh,D	[778-796]
114	2541	UCCCUGCUAUUCAUUGGGA	2689	UCCCAAUGAAUAGCAGG	D	[1424-1442]
115	2542	UAUUCAUUGGGCGCCUGGA	2690	UCCAGGCGCCCAAUGAA	D	[1431-1449]
116	2543	CUGCGCGACGAGGAGGUGA	2691	UCACCUCCUCGUCGCGC	Rh,D	[533-551]
117	2544	CUACGGGCGCGAGGAGCUA	2692	UAGCUCCUCGCGCCCGU	D,M	[1339-1357]
118	2545	CGCGAGGAGCUGCGCAGCA	2693	UGCUGCGCAGCUCCUCG	D,M	[1346-1364]
119	2546	ACACCUGGCUGGGCUGGGA	2694	UCCCAGCCCAGCCAGGU	D	[1186-1204]
120	2547	UCUACGGGCGCGAGGAGCA	2695	UGCUCUCGCGCCCGUA	D,M	[1338-1356]
121	2548	UUCUUAAGCCACACUGGA	2696	UCCAGUGUGGCUUGAAG	Rh,Rb,D	[842-860]
122	2549	CCUGGGCGAGCUGCUGCGA	2697	UCGCAGCAGCUCGCCCA	Rh,D	[559-577]
123	2550	AAGAAGGCUGUUGCCAUCA	2698	UGAUGGCAACAGCCUUC	Rt	[1124-1142]
124	2551	CGACGGCAAGCUGCCCGAA	2699	UUCGGGCAGCUUGCCGU	D	[772-790]
125	2552	GACGGCAAGCUGCCCGAGA	2700	UCUCGGGCAGCUUGCCG	Rh,D	[773-791]
126	2553	UUCAUUGGGCGCCUGGUCA	2701	UGACCAGGCGCCCAAUG	Rh,D	[1433-1451]
127	2554	AAGCGCAGCGCGCUGCAGA	2702	UCUGCAGCGCGCUGCGC	Rh,Rt	[725-743]
128	2555	CCUGGCCCACAAGCUCUCA	2703	UGAGAGCUUGUGGGCCA	Rh,D,P	[1006-1024]
129	2556	ACGGCAAGCUGCCCGAGGA	2704	UCCUCGGGCAGCUUGCC	Rh,D	[774-792]
130	2557	UUUGACCAGGACAUCUACA	2705	UGUAGAUGUCCUGGUCA	Rt	[1325-1343]
131	2558	UGACUUCGUGCGCAGCAGA	2706	UCUGCUGCGCACGAAGU	Rh,Rt,M	[661-679]
132	2559	AAGGACGUGGAGCGCACGA	2707	UCGUGCGCUCCACGUCC	Rh,D	[797-815]
133	2560	UCCAUAACGAGUGGGCCA	2708	UGGCCCCACUCGUUGAUG	Rt,M	[743-761]
134	2561	CACCGACGGCAAGCUGCCA	2709	UGGCAGCUUGCCGUCGG	D,Rt	[769-787]
135	2562	ACGGGCGCGAGGAGCUGCA	2710	UGCAGCUCCUCGCGCCC	D,M	[1341-1359]
136	2563	UCCGCGACAAGCGCAGCGA	2711	UCGCUGCGCUUGUCGCG	D	[717-735]
137	2564	UUGGGCGCCUGGUCCGGCA	2712	UGCCGGACCAGGCGCCC	Rh,D	[1437-1455]
138	2565	AUGGUGGACAACCGUGGCA	2713	UGCCACGGUUGUCCACC	Rh,M	[881-899]
139	2566	AUUGGGCGCCUGGUCCGGA	2714	UCCGGACCAGGCGCCCA	Rh,D	[1436-1454]
140	2567	UACGGGCGCGAGGAGCUGA	2715	UCAGCUCCUCGCGCCCG	D,M	[1340-1358]
141	2568	AUGCACCGACAGGCCUCA	2716	UGAGGCCUGUCCGGUGC	Rh,Rb,Rt,P	[938-956]
142	2569	UUCCACCACAAGAUGGUGA	2717	UCACCAUCUUGUGGUGG	Rh,Rb,D,P	[869-887]
143	2570	UUCCGCGACAAGCGCAGCA	2718	UGCUGCGCUUGUCGCGG	D	[716-734]
144	2571	UACCAGGCCAUGGCCAAGA	2719	UCUUGGCCAUGGCCUGG	Rh,D	[392-410]
145	2572	AAACACCUGGCUGGGCUGA	2720	UCAGCCCAGCCAGGUGU	D	[1184-1202]
146	2573	ACCGACGGCAAGCUGCCCA	2721	UGGGCAGCUUGCCGUCG	D	[770-788]
147	2574	AACACCUGGCUGGGCUGGA	2722	UCCAGCCCAGCCAGGUG	D	[1185-1203]
148	2575	UUCGUGCGCAGCAGCAAGA	2723	UCUUGCUGCUGCGCACG	Rh,D,M	[665-683]

EJEMPLO 10. Modelos animales

Sistemas modelo de afecciones fibróticas

Puede realizarse el ensayo de los ARN^{ic} activos de la invención en modelos animales predictivos. Los modelos diabético y de envejecimiento en rata de fibrosis renal incluyen ratas obesas diabéticas Zucker (ZDF), ratas maduras fa/fa (obesas Zucker), ratas maduras Sprague-Dawley (SD) y ratas Goto Kakizaki (GK); las ratas GK son una cepa endogámica derivada de ratas Wistar seleccionadas por el desarrollo espontáneo de NIDDM (diabetes de tipo II). Los modelos inducidos de fibrosis renal incluyen el modelo de obstrucción ureteral unilateral permanente (OUU), que es un modelo de fibrosis intersticial aguda que aparece en animales sanos no diabéticos; la fibrosis renal se desarrolla en días después de la obstrucción. Es otro modelo inducido de fibrosis renal la nefrectomía 5/6.

Son dos modelos de fibrosis hepática en ratas el de ligadura del conducto biliar (LCB) con operación ficticia como control y envenenamiento con CCl₄, con animales alimentados con aceite de oliva como controles, como se describe en las siguientes referencias: Lotersztajn S, *et al.* "Hepatic Fibrosis: Molecular Mechanisms and Drug Targets". Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 7 de octubre de 2004; Uchio K, *et al.*, "Down-regulation of connective tissue growth factor and type I collagen mRNA expression by connective tissue growth factor antisense oligonucleotide during experimental hepatic fibrosis". Wound Repair Regen. enero-febrero de 2004; 12 (1):60-6; Xu X Q, *et al.*, "Molecular classification of liver cirrhosis in a rat model by proteomics and bioinformatics" Proteomics. octubre de 2004; 4 (10): 3235-45.

Los modelos de cicatrización ocular son bien conocidos en la materia, p.ej. Sherwood M B *et al.*, J. Glaucoma. octubre de 2004; 13 (5): 407-12. "A new model of glaucoma filtering surgery in the rat"; Miller M H *et al.*, Ophthalmic Surg. mayo de 1989; 20(5): 350-7. "Wound healing in an animal model of glaucoma fistulizing surgery in the Rb"; vanBockxmeer FM *et al.*, Retina. otoño-invierno de 1985; 5(4): 239-52. "Models for assessing scar tissue inhibitors"; Wiedemann P *et al.*, J. Pharmacol. Methods. agosto de 1984; 12 (1): 69-78. "Proliferative vitreoretinopathy: the Rb cell injection model for screening of antiproliferative drugs".

Se describen modelos de cataratas en las siguientes publicaciones: "The role of Src family kinases in cortical cataract formation". Zhou J, Menko A S. Invest. Ophthalmol. V. and Sci. julio de 2002; 43 (7): 2293-300; "Bioavailability and anticataract effects of a topical ocular drug delivery system containing disulfuram and hydroxypropyl-beta-ciclodextrin on selenite-treated rats". Wang S, *et al.* http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15370367 Curr. Eye Res. julio de 2004; 29 (1): 51-8 y "Long-term organ culture system to study the effects of UV-A irradiation on lens transglutaminase". Weinreb O, Dovrat A.; Curr. Eye Res. julio de 2004; 29 (1): 51-8.

Se ensayaron los compuestos de la Tabla A-18 y la Tabla A-19 en estos modelos de afecciones fibróticas, en los que se encontró que son eficaces para tratar fibrosis hepática y otras afecciones fibróticas.

Sistemas modelo de glaucoma

Se efectuó el ensayo de ARNic activos de la invención para tratar o prevenir el glaucoma en el modelo animal de rata para aplastamiento del nervio óptico descrito, por ejemplo, en: Maeda, K. *et al.*, "A Novel Neuroprotectant against Retinal Ganglion Cell Damage in a Glaucoma Model and an Optic Nerve Crush Model in the rat", Investigative Ophthalmology and visual Science (IOVS), marzo de 2004, 45(3) 851. Específicamente, se expone para la transección del nervio óptico el nervio óptico orbital (NO) de ratas anestesiadas a través de una aproximación supraorbital, se cortan las meninges y se transeccionan todos los axones del NO aplastando con fórceps durante 10 segundos a 2 mm de la lámina cribosa.

Se ensayan las moléculas de ácido nucleico como se da a conocer en la presente memoria en este modelo animal y los resultados muestran que estos compuestos de ARNic son útiles en el tratamiento y/o la prevención del glaucoma.

Modelo de aplastamiento del nervio óptico (ANO): suministro de ARNic intravítreo y suministro por gotas oculares

Para la transección del nervio óptico, se expone el nervio óptico orbital (NO) de ratas anestesiadas a través de una aproximación supraorbital, se cortan las meninges y se transeccionan todos los axones en el NO aplastando con fórceps durante 10 segundos a 2 mm de la lámina cribosa.

Se suministran los compuestos de ARNic solos o en combinación en un volumen de 5 µl (10 µg/µl) en forma de gotas oculares. Inmediatamente después del aplastamiento del nervio óptico (ANO), se administran 20 µg/10 µl de ARNic de ensayo o 10 µl de PBS a uno o ambos ojos de ratas Wistar adultas y se determinan los niveles de ARNic captados por las retinas enteras diseccionadas y congeladas instantáneamente a las 5 h y 1 d, y después a los 2 d, 4 d, 7 d, 14 d y 21 d después de la inyección. Se efectúan experimentos similares para ensayar la actividad y eficacia de ARNic administrado a través de gotas oculares.

Sistemas modelo de lesión por reperfusión isquémica después de trasplante de pulmón en ratas

Se consigue la lesión por isquemia/reperfusión pulmonar en un modelo animal de rata como se describe en Mizobuchi *et al.*, "The Journal of Heart and Lung Transplantation", vol. 23 nº. 7 (2004) y en Kazuhiro Yasufuku *et al.*, Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol., vol 25, pág. 26-34 (2001).

Específicamente, después de inducir la anestesia con isoflurano, se canula la tráquea con un catéter de teflón de calibre 14 y se ventila mecánicamente la rata con ventilador de roedores usando 100 % de oxígeno a una velocidad de 70 inhalaciones por minuto y 0,19 kPa de presión respiratoria final positiva. Se bloquean la arteria, venas y bronquios principales pulmonares izquierdos con una pinza de Castañeda. Durante la operación, se mantiene humedecido el pulmón con solución salina y se cubre la incisión para minimizar las pérdidas evaporativas. El periodo de isquemia es de 60 minutos de largo. Al final del periodo isquémico, se retira la pinza y se deja ventilar y

reperfundir el pulmón durante 4 h, 24 h, y 5 d adicionales después de la inducción de isquemia pulmonar. Al final del experimento, se recolectan cuidadosamente los pulmones y se congelan para extracción de ARN o se fijan con cóctel de glutaraldehído para posterior análisis histológico.

5 El modelo animal de bleomicina como modelo de fibrosis pulmonar idiopática (FPI).

Ensayo de la viabilidad del suministro pulmonar y hepático de ARNic formulado con vitamina A-Coatsome administrado mediante inyección intravenosa y administración intratecal de complejo de ARNic-vitamina A-Coatsome a ratones sanos y ratones tratados con bleomicina

10 Objetivo: Ensayar dos vías de administración para la viabilidad del suministro de ARNic formulado con vitamina A-Coatsome a pulmones de ratón normales y fibróticos. La hipótesis principal para ensayar en el actual estudio es si la administración sistémica de ARNic modificado formulado con vitamina A-Coatsome proporciona una captación eficaz y distribución específica de célula en pulmones de ratón fibróticos y normales. La vía intratecal de ARNic
15 modificados formulados con vitamina A-Coatsome se ensayará en paralelo. Se efectuará la detección de ARNic y distribución específica de célula en los pulmones e hígado mediante hibridación *in situ* (ISH)

Antecedentes: El modelo de fibrosis pulmonar por bleomicina se ha desarrollado y caracterizado bien en los últimos 30 años (Moeller, *et al.* *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 40: 362-382, 2008; Chua *et al.*, *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 33: 9-13, 2005). Los signos distintivos histológicos, tales como yemas intraalveolares, incorporación mural de colágeno y erradicación del espacio alveolar, están presentes en animales tratados con BLM de forma similar a pacientes de FPI. Estudios anteriores demostraron que los ratones C57/B1 eran consistentemente propensos a fibrosis pulmonar inducida por BLM, mientras que los ratones Balb/C eran inherentemente resistentes. Dependiendo de la vía de administración, se desarrollan diferentes patrones fibróticos. La instilación intratraqueal de BLM da como resultado una fibrosis bronquicéntrica acentuada, mientras que la administración intravenosa o intraperitoneal induce una cicatrización subpleural similar a la enfermedad humana (Chua *et al. ibid*). Se usa un modelo de ratón de neumonía intersticial habitual (NIA). Este modelo muestra una distribución heterogénea de la fibroproliferación, distribuida principalmente de forma subpleural y formando lesiones similares a las observadas en los pulmones de pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (FPI) (Onuma, *et al.*, *Tohoku J. Exp. Med.* 194: 147-156, 2001 y Yamaguchi y Ruoslahti, *Nature* 336: 244-246, 1988). La NIA se inducirá por inyección intraperitoneal de bleomicina cada dos días durante 7 días para una composición constante de fibroproliferación subpleural en el pulmón de ratón (Swiderski *et al. Am. J. Pathol.* 152: 821-828, 1998 y Shimizukawa *et al.*, *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 284: L526-L532, 2003).

35 Como se demostró anteriormente, los liposomas cargados con vitamina A que contienen ARNic interaccionan con proteína de unión a retinol (RBP) y proporcionan un suministro eficaz a las células estrelladas hepáticas a través del receptor de RBP (Sato *et al. Nat. Biotechnol.* 26: 431-442, 2008). Este estudio se planea ensayar si el complejo de vitA-Coatsome-ARNic se captará eficazmente por miofibroblastos activados que expresan el receptor de RBP en los pulmones de ratones tratados con bleomicina. Además, se ensayará la vía de administración local (instilación intratraqueal).
40

Diseño de estudio general

Ratones— C57 B1 machos

45 N de partida (BLM I.P.)—40 (6 para el primer grupo piloto, 34 para el estudio, teniendo en consideración una mortalidad prevista del 25 %)

N de partida (Total)—60

ARNic de ensayo: Los compuestos de SERPINHI dados a conocer en la presente memoria.

50 Grupos:

Nº	Dosis de BLM, mg/kg de PC en 0,1 ml de solución salina	Vía de adm. de BLM	Régimen de BLM	Dosis de ARNic, mg/kg de PC	Vía de adm. de ARNic	Régimen de ARNic	Terminación después de la última adm. de ARNic	N (antes de la administración de ARNic)
1	0,75	I.P.	dd 0, 2, 4, 6	4,5	I.V.	2 al día	2 h	4
2	0,75	I.P.	dd 0, 2, 4, 6	4,5	I.V.	2 al día	24 h	4
3	0,75	I.P.	dd 0, 2, 4, 6	2,25	I.T.	2 al día	2 h	4
4	0,75	I.P.	dd 0, 2, 4, 6	2,25	I.T.	2 al día	24 h	4

5		Intacto	N/A	4,5	I.V.	2 al día	2 h	4
6		Intacto	N/A	4,5	I.V.	2 al día	24 h	4
7		Intacto	N/A	2,25	I.T.	2 al día	2 h	4
8		Intacto	N/A	2,25	I.V.	2 al día	24 h	4
9	0,75	I.P.	dd 0, 2, 4, 6	N/A	I.V. vehículo	2 al día	24 h	3
10	0,75	I.P.	dd 0, 2, 4, 6	N/A	I.T. vehículo	2 al día	24 h	3
11		Intacto	N/A	N/A	Intacto	N/A	Cualquier momento	3

Fibrosis pulmonar inducida por bleomicina. Se inducirá la fibrosis pulmonar de ratones C57BL/6 hembra de 12 semanas mediante la instilación intraperitoneal de clorato de bleomicina: 0,75 mg/kg de peso corporal disueltos en 0,1 ml de solución salina cada dos días durante 7 días, los días 0, 2, 4 y 6.

5 Seguimiento y monitorización del modelo. Se pesarán los ratones antes del tratamiento con BLM y dos veces por semana durante el periodo de duración del estudio.

10 Evaluación piloto del establecimiento de fibrosis. Se someten los ratones (N= 30) a tratamiento con BLM en grupos, permitiendo un intervalo de una semana entre el primer grupo tratado (N= 5) y el resto de los animales. El día 14, se sacrifican 2 ratones del primer grupo y se recolectan los pulmones para tinción con HE rápida y evaluación histopatológica rápida de la fibrosis. Cuando se confirma la fibrosis pulmonar, se clasifican las ratas restantes en los grupos y se tratan con ARNic el día 14 después del primer tratamiento con BLM. En caso de que no se desarrolle suficiente fibrosis en los pulmones para el día 14, se sacrifican los ratones restantes del primer grupo tratado el día 15 21, seguido de una evaluación histopatológica rápida de la fibrosis. Se trata el resto de los animales con complejo de ARNic de ensayo a partir del día 21 después del tratamiento con BLM.

20 Administración de ARNic. El día 14 o el día 21 después de la primera administración de BLM (TBD durante el estudio, basado en la evaluación piloto del establecimiento de fibrosis), se clasifican por grupos los animales según el PC. Se administra a los animales de los grupos 1 y 2 por vía intravenosa (inyección en la vena de la cola) complejo de ARNic/vitA/Coatsome a una concentración de ARNic de 4,5 mg/kg de PC. Se tratan animales intactos de la misma edad (grupos 5 y 6) de la misma manera. Los animales tratados con BLM (grupo 9) se usarán como control de vehículo de vitA-Coatsome). En 24 horas, se repite la inyección a todos los animales como anteriormente.

25 Los animales de BLM de los grupos 3 y 4 y ratones intactos de los grupos 7 y 8 se anestesian con isoflurano y se someten a la instilación intratraqueal de 2,25 mg/kg de PC de ARNic formulados en liposomas cargados con vitA. Se administra a los ratones del grupo de BLM 10 vehículo de vitA/Coatsome solo. Se repite la instilación intratraqueal después de 24 horas.

30 Terminación del estudio. Se sacrifican los animales de los grupos 1, 3, 5, 7 y 9 a las 2 horas después de la segunda inyección o instilación de complejo de ARNic. Se sacrifican los animales de los grupos 2, 4, 6, 8 y 10 a las 24 horas después de la segunda inyección o instilación de complejo de ARNic.

35 Tras el sacrificio de los animales, se someten a perfusión transcardiaca los ratones con formalina tamponada neutra al 10 %. Se inflan los pulmones con 0,8-1,0 ml de NBF al 10 % y se liga la tráquea. Se extirpan los pulmones y se fijan durante 24 h con NBF al 10 %. Se recolecta el hígado de cada animal y se fija con NBF al 10 % durante 24 h.

40 Seccionamiento y evaluación. Se preparan las secciones consiguientes a partir de los pulmones e hígados. Se tiñe la primera sección consiguiente con hematoxilina y eosina para la valoración de la morfología del pulmón e hígado, se tiñe la segunda sección con rojo Sirio (tricroómico) para identificar el colágeno. Se someten las terceras secciones consiguientes a hibridación *in situ* (ISH) para la detección del ARNic.

45 Se ensayan los compuestos como se describen en la presente memoria en este modelo animal y los resultados muestran que estos compuestos de ARNic son útiles en el tratamiento y/o la prevención de lesión por reperusión isquémica después de trasplante de pulmón.

TABLA 1

Lista de secuencias de ARNic

ARNic	Región diana		Secuencia de base [correspondiente a los nucleótidos de SEQ ID NO: 1]	Secuencia experimental [correspondiente a los nucleótidos de SEQ ID NO: 1]
siHSP47-C	hsp47 humana/ de rata	codificante	5' GGACAGGCCUCUACAACUAAU (SEQ ID NO: 3) [945-963]	5' GGACAGGCCUCUACAACUAdTdT (SEQ ID NO: 5) [945-963]
		anticodificante	5' UAGUUGUAGAGGCCUGUCCUU (SEQ ID NO: 4) [945-963]	5' UAGUUGUAGAGGCCUGUCCdTdT (SEQ ID NO: 6) [945-963]
siHSP47-Cd	hsp47 humana/ de rata	codificante	5' GGACAGGCCUCUACAACUACGGA (SEQ ID NO: 7) [945-969]	5' GGACAGGCCUCUACAACUACdGdA (SEQ ID NO: 9) [945-969]
		anticodificante	5' UCGUAGUAGUUGUAGAGGCCUGUCCUU (SEQ ID NO: 8) [945-969]	5' UCGUAGUAGUUGUAGAGGCCUGUCCUU (SEQ ID NO: 10) [945-969]
siHSP47-1	hsp47 humana/ de rata	codificante	5' CAGGCCUCUACAACUAAU (SEQ ID NO: 11) [948-966]	5' CAGGCCUCUACAACUAdTdT (SEQ ID NO: 13) [948-966]
		anticodificante	5' UAGUAGUUGUAGAGGCCUGUU (SEQ ID NO: 12) [948-966]	5' UAGUAGUUGUAGAGGCCUGdTdT (SEQ ID NO: 14) [948-966]
siHSP47-1d	hsp47 humana	codificante	5' CAGGCCUCUACAACUACGACGA (SEQ ID NO: 15) [948-972]	5' CAGGCCUCUACAACUACGACdGdA (SEQ ID NO: 17) [948-972]

		anticodificante	5' UCGUCGUAGUAGUUGAGAGGCCUGUU (SEQ ID NO: 16) [948-972]	5' UCGUCGUAGUAGUUGAGAGGCCUGUU (SEQ ID NO: 18) [948-972]
siHsp47-2	hsp47 humana	codificante	5' GAGCACUCCAAGAUAACUUU (SEQ ID NO: 19) [698-717]	5' GAGCACUCCAAGAUAACUdTdT (SEQ ID NO: 21) [698-717]
		anticodificante	5' AGUUGAUCUUGGAGUGCUCUU (SEQ ID NO: 20) [698-716]	5' AGUUGAUCUUGGAGUGCUCdTdT (SEQ ID NO: 22) [698-716]
siHsp47-2d	hsp47 humana	codificante	5' GAGCACUCCAAGAUAACUCCGCG (SEQ ID NO: 23) [698-722]	5' GAGCACUCCAAGAUAACUCCGdCdG (SEQ ID NO: 25) [698-722]
		anticodificante	5' CGCGGAAGUUGAUCUUGGAGUGCUCUU (SEQ ID NO: 24) [698-722]	5' CGCGGAAGUUGAUCUUGGAGUGCUCUU (SEQ ID NO: 26) [698-722]
siHsp47-2d de rata	Gp46 de rata	codificante	5' GAACACUCCAAGAUAACUCCGAG (SEQ ID NO: 27) [587-611]	5' GAACACUCCAAGAUAACUCCGdAdG (SEQ ID NO: 29) [587-611]
		anticodificante	5' CUCGGAAGUUGAUCUUGGAGUGUUCUU (SEQ ID NO: 28) [587-611]	5' CUCGGAAGUUGAUCUUGGAGUGUUCUU (SEQ ID NO: 30) [587-611]
siHsp47-3	hsp47 humana	codificante	5' CUGAGGCCAUUGACAAGAAUU (SEQ ID NO: 31) [1209-1227]	5' CUGAGGCCAUUGACAAGAAdTdT (SEQ ID NO: 33) [1209-1227]
		anticodificante	5' UUCUUGUCA AUGGCCUCAGUU (SEQ ID NO: 32) [1209-1227]	5' UUCUUGUCA AUGGCCUCAGdTdT (SEQ ID NO: 34) [1209-1227]

siHsp47-3d	hsp47 humana	codificante	5' CUGAGGCCAUUGACAAGAACAAAGGC (SEQ ID NO: 35) [1209-1233]	5' CUGAGGCCAUUGACAAGAACAAAGdGdC (SEQ ID NO: 37) [1209-1233]
		anticodificante	5' GCCUUGUUCUUGUCAAUUGGCCUCAGUU (SEQ ID NO: 36) [1209-1233]	5' GCCUUGUUCUUGUCAAUUGGCCUCAGUU (SEQ ID NO: 38) [1209-1233]
siHsp47-4	hsp47 humana	codificante	5' CUACGACGACGAGAGGAAUU (SEQ ID NO: 39) [964-982]	5' CUACGACGACGAGAGGAAAdTdT (SEQ ID NO: 41) [964-982]
		anticodificante	5' UUCUUCUUCGUCGUCGUAGUU (SEQ ID NO: 40) [964-982]	5' UUCUUCUUCGUCGUCGUAGdTdT (SEQ ID NO: 42) [964-982]
siHsp47-4d	hsp47 humana	codificante	5' CUACGACGACGAGAGGAAAGCUG (SEQ ID NO: 43) [964-988]	5' CUACGACGACGAGAGGAAAGCdTdG (SEQ ID NO: 45) [964-988]
		anticodificante	5' CAGCUUUUCCUUCUCGUCGUAGUU (SEQ ID NO: 44) [964-988]	5' CAGCUUUUCCUUCUCGUCGUAGUU (SEQ ID NO: 46) [964-988]
siHsp47-5	hsp47 humana	codificante	5' GCCACACUGGGAUGAGAAUU (SEQ ID NO: 47) [850-870]	5' GCCACACUGGGAUGAGAAAdTdT (SEQ ID NO: 49) [850-870]
		anticodificante	5' UUUUCUAUCCAGUGUGGCUU (SEQ ID NO: 48) [850-868]	5' UUUUCUAUCCAGUGUGGCUdTdT (SEQ ID NO: 50) [850-868]
siHsp47-6	hsp47 humana	codificante	5' GCAGCAAGCAGCACUACAAUU (SEQ ID NO: 51) [675-693]	5' GCAGCAAGCAGCACUACAAAdTdT (SEQ ID NO: 53) [675-693]

		anticodificante	5' UUGUAGUGCUGCUUGCUGCUU (SEQ ID NO: 52) [675-693]	5' UUGUAGUGCUGCUUGCUGCtTdT (SEQ ID NO: 54) [675-693]
siHsp47-7	hsp47 humana	codificante	5' CCGUGGGUGUCAUGAUAUU (SEQ ID NO: 55) [921-939]	5' CCGUGGGUGUCAUGAUAUdTdT (SEQ ID NO: 57) [921-939]
		anticodificante	5' AUCAUCAUGACACCCACGGUU (SEQ ID NO: 56) [921-939]	5' AUCAUCAUGACACCCACGGdTdT (SEQ ID NO: 58) [921-939]

La presente invención enseña a un especialista en la materia a ensayar diversas combinaciones y/o sustituciones de las modificaciones químicas descritas en la presente memoria para generar constructos de ácido nucleico con actividad mejorada para mediar la actividad de iARN. Dicha actividad mejorada puede incluir estabilidad mejorada, biodisponibilidad mejorada y/o activación mejorada de las respuestas celulares que median la iARN. Por lo tanto, las realizaciones específicas descritas en la presente memoria no son limitantes y un especialista en la materia puede apreciar fácilmente que pueden ensayarse combinaciones específicas de las modificaciones descritas en la presente memoria sin experimentación indebida para identificar moléculas de ácido nucleico con actividad de iARN mejorada.

Las invenciones descritas ilustrativamente en la presente memoria pueden practicarse adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, no dados a conocer específicamente en la presente memoria. Por tanto, por ejemplo, los términos “un” y “una” y “el/la” y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) ha de considerarse que cubren tanto el singular como el plural, a menos que se indique otra cosa en la presente memoria o se contradiga claramente por el contexto. Los términos “comprende”, “tiene”, “incluye”, “contiene” etc. tendrán que leerse ampliamente y sin limitación (p.ej., significando “incluye pero sin limitación”). La enumeración de intervalos de valores en la presente memoria pretende simplemente servir como procedimiento abreviado para hacer referencia individualmente a cada valor separado que entra dentro del intervalo, a menos que se indique otra cosa en la presente memoria, y cada valor separado se incorpora a la memoria descriptiva como si se enumerara individualmente en la presente memoria. Todos los procedimientos descritos en la presente memoria pueden efectuarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique otra cosa en la presente memoria o se contradiga claramente por el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos o frases ejemplares (p.ej., “tal como”) proporcionados en la presente memoria se pretende simplemente para iluminar mejor la invención y no plantea una limitación sobre el alcance de la invención a menos que se reivindique otra cosa. Ninguna frase de la memoria descriptiva debería considerarse como indicativa de un elemento no reivindicado como esencial en la práctica de la invención. Adicionalmente, los términos y expresiones empleados en la presente memoria se han usado como términos de descripción y no limitación, y no hay intención en el uso de dichos términos y expresiones de excluir ningún equivalente de los rasgos mostrados y descritos o porciones de los mismos, sino que se reconoce que son posibles diversas modificaciones dentro del alcance de la invención reivindicada. Por tanto, debería entenderse que aunque la presente invención se ha dado a conocer específicamente por realizaciones preferidas y rasgos opcionales, puede recurrirse a la modificación y variación de las invenciones ejemplificadas dadas a conocer en la presente memoria por los especialistas en la materia, y dichas modificaciones y variaciones se considera que están dentro del alcance de esta invención.

La invención se ha descrito de forma amplia y genérica en la presente memoria. Cada una de las especies y agrupaciones subgenéricas más restringidas que entran dentro de la divulgación genérica forman también parte de la invención. Esto incluye la descripción genérica de la invención con la condición o limitación negativa de eliminar cualquier materia en cuestión del género, independientemente de si el material extraído se enumera específicamente en la presente memoria. Están dentro de las siguientes reivindicaciones otras realizaciones. Además, cuando se describen rasgos o aspectos de la invención en términos de grupos de Markush, los especialistas en la materia reconocerán que la invención se describe así también en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo de Markush.

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ácido nucleico bicatenaria que tiene la estructura (A2) expuesta a continuación:

5 (A2) 5' N¹-(N)x- Z 3' (hebra anticodificante)
3' Z'-N²-(N')y-z" 5' (hebra codificante)

en la que cada uno de N², N y N' es un ribonucleótido no modificado o modificado o un resto no convencional;
en la que cada uno de (N)x y (N')y es un oligonucleótido en que cada N o N' consecutivo está unido al N o N'
10 adyacente por un enlace covalente;
en la que cada uno de x e y es independientemente un entero entre 17 y 39;
en la que la secuencia de (N')y tiene complementariedad con la secuencia de (N)x y (N)x tiene complementariedad
con una secuencia consecutiva en un ARNm de hsp47 (SEQ ID NO: 1);
en la que N¹ está unido covalentemente a (N)x y está desapareado con el ARNm de hsp47 o es un resto de ADN
15 complementario del ARNm de hsp47;
en la que N¹ es un resto seleccionado del grupo consistente en uridina, desoxirribouridina, ribotimidina,
desoxirribotimidina, adenosina o desoxiadenosina naturales o modificadas;
en la que z" puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado
covalentemente con el extremo 5' de N²-(N')y;
20 en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es
independientemente 1-5 nucleótidos consecutivos, restos no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los
mismos conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y
en la que la hebra anticodificante comprende una secuencia anticodificante de SEQ ID NO: 127.

25 2. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de la reivindicación 1 en la que x = y= 18.

3. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que la hebra
codificante y la hebra anticodificante son el oligonucleótido descrito como SERPINH1_2 (SEQ ID NO: 60 y 127).

30 4. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de la reivindicación 3, que tiene la estructura

5'	UAUAGCACCCAUGUGUCUC	-Z	3'	(hebra anticodificante de SEQ ID NO: 127)
3'	Z'-AUAUCGUGGGUACACAGAG	- z"	5'	(hebra codificante de SEQ ID NO: 60)

en la que cada "||" representa un apareamiento de bases entre los ribonucleótidos;
en la que cada uno de A, C, G y U es independientemente un ribonucleótido no modificado o modificado o un resto
35 no convencional;
en la que cada uno de Z y Z' está independientemente presente o ausente, pero si está presente es
independientemente 1-5 nucleótidos o restos no nucleotídicos consecutivos o una combinación de los mismos
conectados covalentemente con el extremo 3' de la hebra en que está presente; y
en la que z" puede estar presente o ausente, pero si está presente es un resto de caperuza conectado
40 covalentemente con el extremo 5' de la hebra codificante.

5. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de la reivindicación 1, en la que la hebra codificante comprende
adicionalmente Z', y en la que opcionalmente Z' incluye un resto C3OH o un resto C3Pi.

45 6. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de la reivindicación 5, en la que cada uno de Z y/o Z' incluye dos
restos alquilo ligados covalentemente con el extremo 3' de la hebra anticodificante o hebra codificante a través de un
ligamiento fosfodiéster o fosforotioato y ligados covalentemente entre sí a través de un ligamiento fosfodiéster o
fosforotioato, y en la que opcionalmente Z y/o Z' es C3Pi-C3Pi o C3Pi-C3OH.

50 7. La molécula de ácido nucleico bicatenario de la reivindicación 3, en la que x= y= 18 y N¹-(N)x comprende
ribonucleótidos modificados con 2'-O-metilazúcar en las posiciones (5'>3') 3, 5, 9, 11, 13, 15 y 17.

8. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de la reivindicación 4, en la que la hebra anticodificante
comprende una o más pirimidinas y/o purinas modificadas con 2'-OMe-azúcar, un ribonucleótido 2'-5' en posición 5,
55 6, 7 u 8 y un saliente nucleotídico o no nucleotídico 3'-terminal.

9. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de la reivindicación 4, en la que la hebra codificante comprende 4
o 5 nucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 3'-terminal o penúltima, un resto nucleotídico o no nucleotídico
conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'.

60

10. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de la reivindicación 4, en la que z'' está presente y comprende un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5' de la hebra codificante, en la que el resto de caperuza se selecciona opcionalmente del grupo consistente en un resto de ribosa abásico, un resto de ribosa abásico invertido, un resto de desoxirribosa abásico invertido, un resto de desoxirribosa abásico y modificaciones de los mismos; C6-imino-Pi; un nucleótido espejo; 5'OMe-nucleótido; 4',5'-metilenonucleótido; 1-(β-D-eritrofuranosil)nucleótido; 4'-tionucleótido, nucleótido carbocíclico; fosfato de 5'-aminoalquilo; fosfato de 1,3-diamino-2-propilo, fosfato de 3-aminopropilo, fosfato de 6-aminoheptilo; fosfato de 12-aminodecilo; fosfato de hidroxipropilo, 1,5-anhidrohexitolnucleótido; α-nucleótido; treopentofuranosilnucleótido; 3',4'-seconucleótido acíclico; 3,4-dihidroxibutilnucleótido; 3,5-dihidroxipentilnucleótido, resto abásico 5'-5'-invertido; fosfato de 1,4-butanodiol; 5'-amino y restos metilfosfonato y 5'-mercapto de puente y no de puente.
11. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de la reivindicación 1, en la que la hebra anticodificante es la SEQ ID NO: 127 e incluye ribonucleótidos modificados con 2'OMe-azúcar, un 2'-5' ribonucleótido en al menos una de las posiciones 1, 5, 6 o 7 y un resto no nucleotídico 3'-terminal conectado covalentemente con el extremo 3'; y la hebra codificante es la SEQ ID NO: 60 e incluye al menos un ribonucleótido 2'-5' o ribonucleótido modificado con 2'OMe, un resto no nucleotídico conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza conectado covalentemente con el extremo 5'.
12. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de la reivindicación 4, en la que la hebra anticodificante comprende ribonucleótidos modificados con 2'-O-metilazúcar en las posiciones (5'>3') 1, 3, 5, 9, 11, 13, 15, 17 y 19, un ribonucleótido 2'-5' en la posición (5'>3') 7 y un resto no nucleotídico 3Pi-C3OH conectado covalentemente con el extremo 3', y en la que la hebra codificante comprende 5 ribonucleótidos 2'-5' consecutivos en las posiciones 3'-terminales (5'>3') 15, 16, 17, 18 y 19, un resto no nucleotídico C3Pi conectado covalentemente con el extremo 3' y un resto de caperuza desoxirribonucleotídico abásico invertido conectado covalentemente con el extremo 5'.
13. La molécula de ácido nucleico bicatenaria de cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para uso en el tratamiento de un individuo que padece una enfermedad asociada a hsp47, en la que dicha enfermedad comprende opcionalmente fibrosis.
14. Una composición que comprende la molécula de ácido nucleico bicatenaria de cualquiera de las reivindicaciones 1-12 y un portador farmacéuticamente aceptable.

FIGURA 1

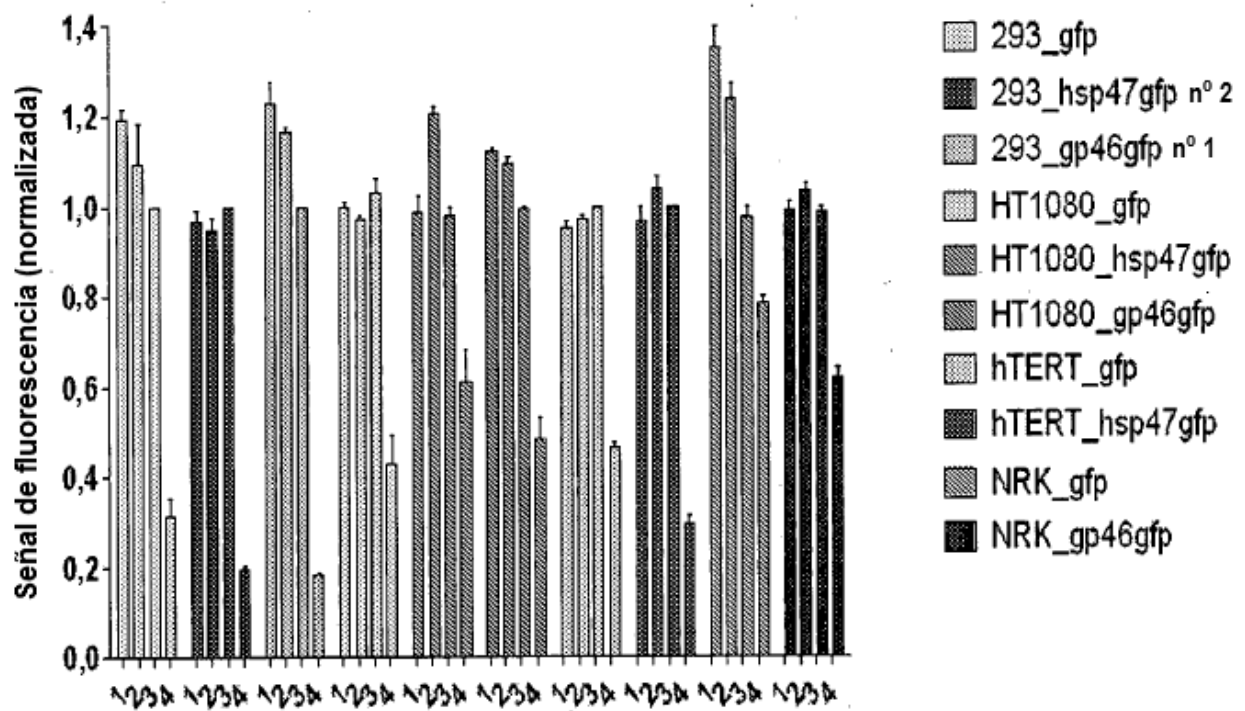


FIGURA 2

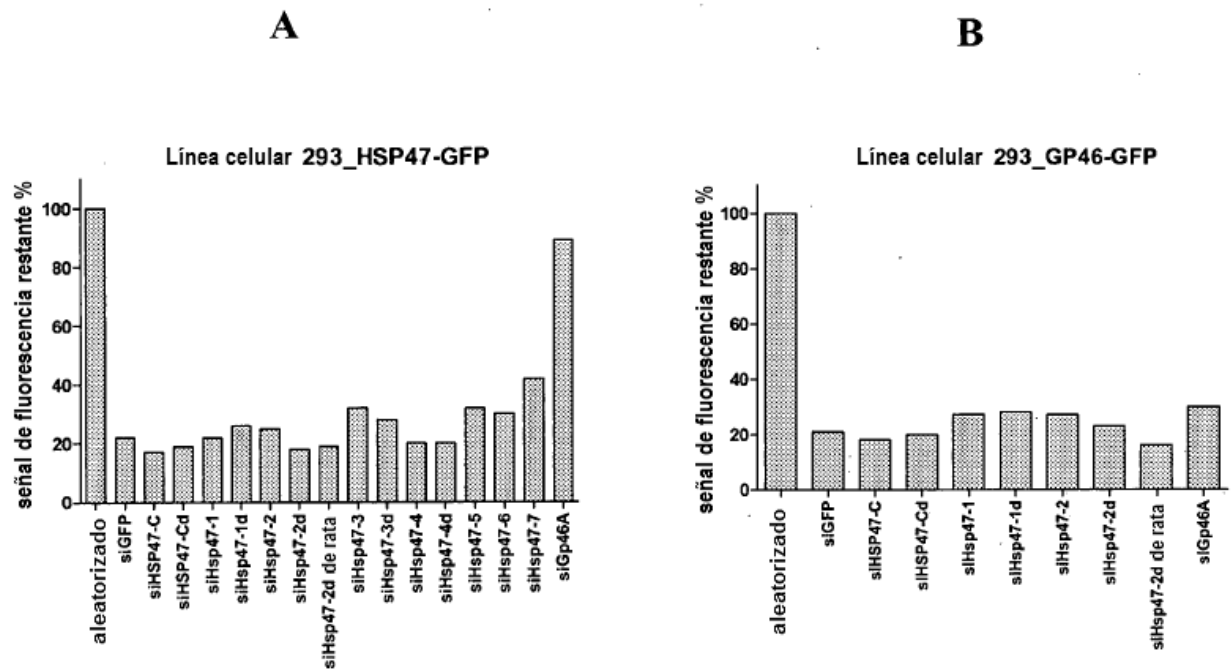
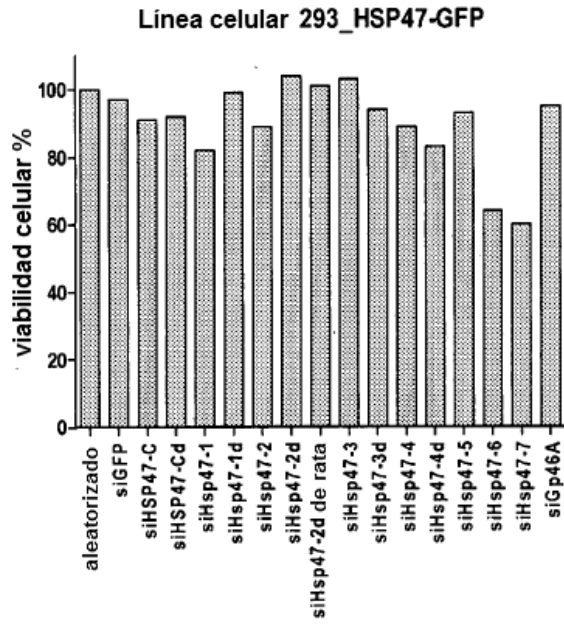


FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)

C



D

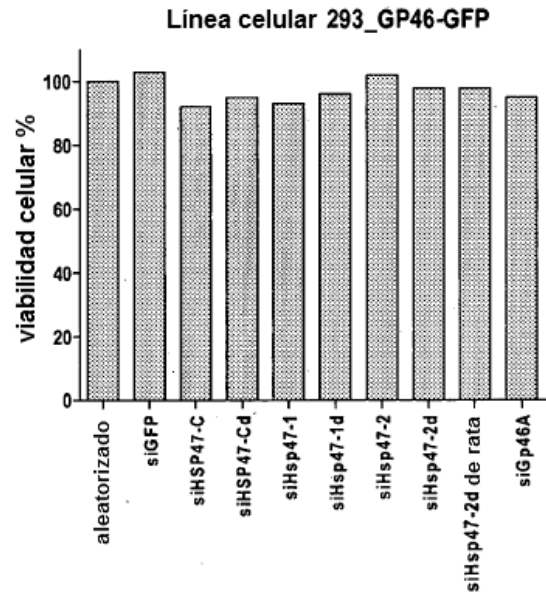


FIGURA 3

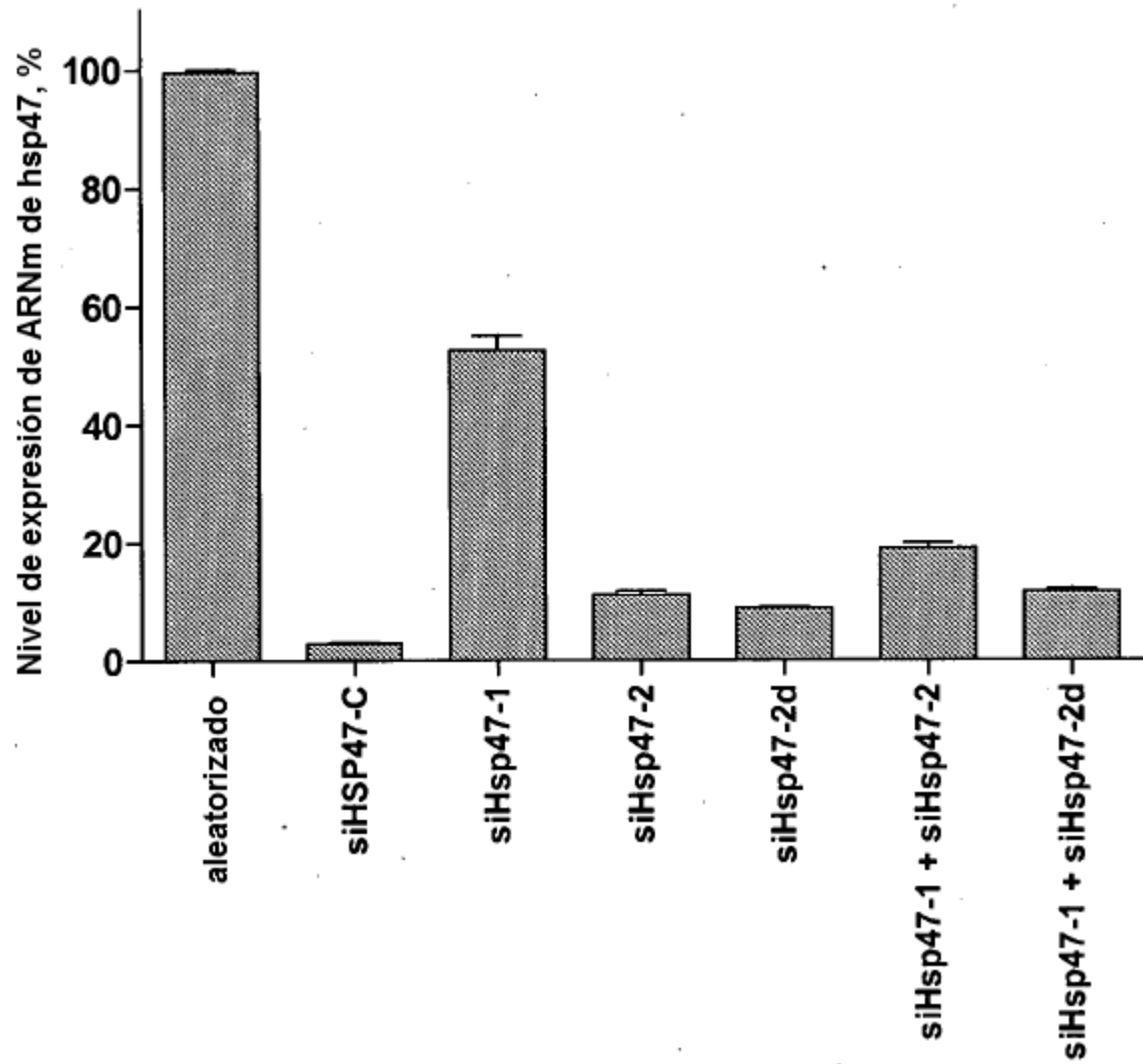


FIGURA 4

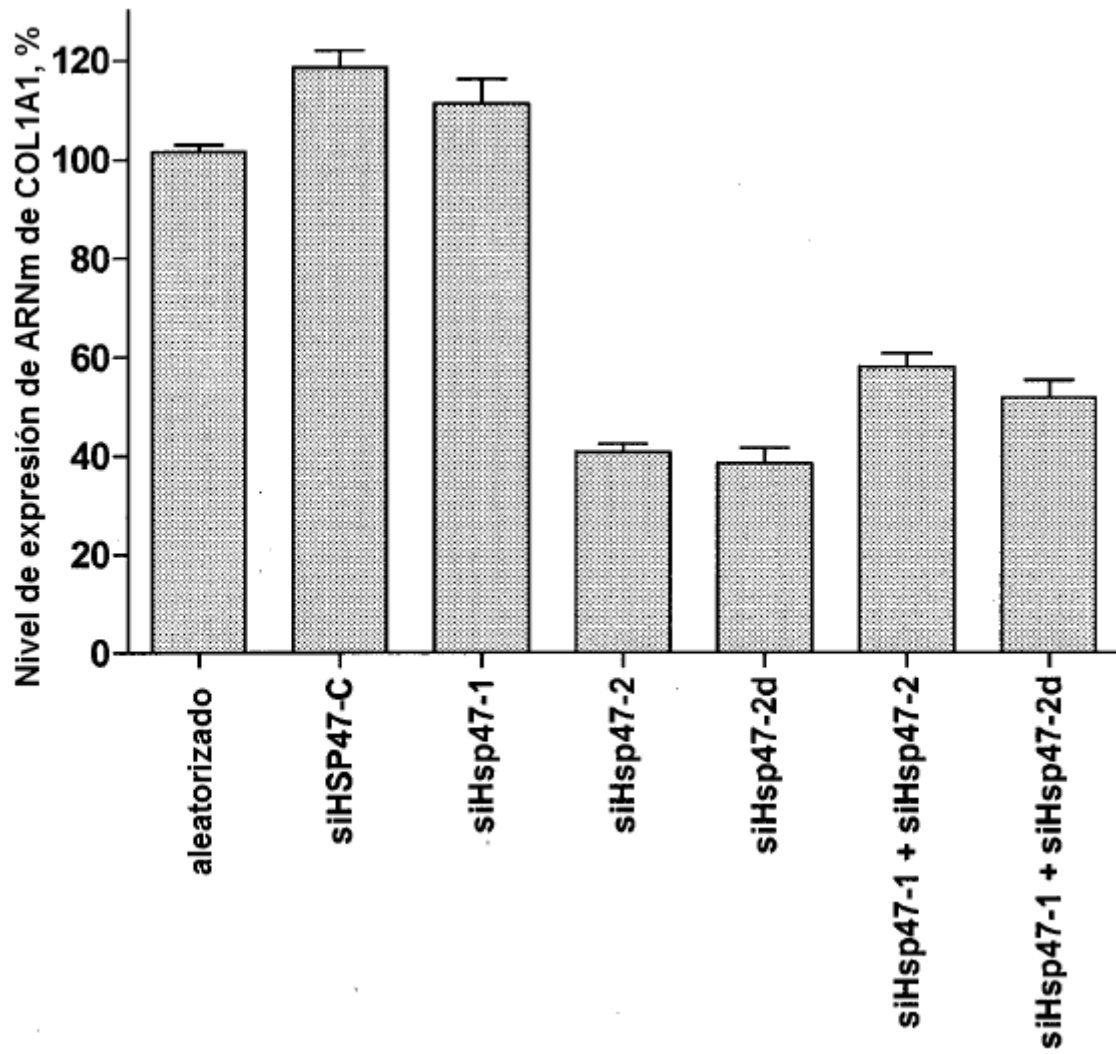


FIGURA 5

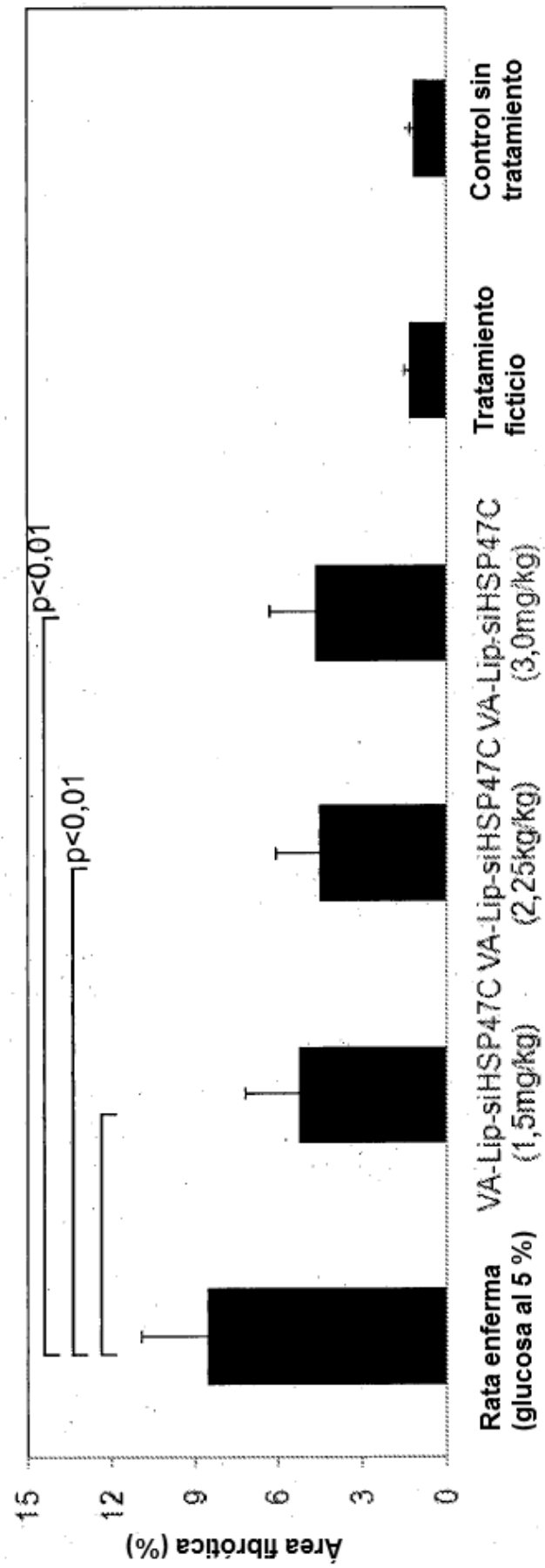


FIGURA 6 (ARNm basado en la secuencia de ADNc NM_001235)

```

1  uuuuugggcuu uuuuugggagg agcugggggag cccuccggaa gcguuuccaa cuuuccagaa
61  guuucucggg acgggcagga gggggugggg acugccauau auagaucagg ggagcagggg
121 agcgggcuaa gaguagaauu gugucgggag ucgagagcga gagucacguc ccggcgcuag
181 cccagccccg cccaggccca ccguggugca cgcaaaccac uuccuggcca ugcgcucccu
241 ccugcuucuc agcgcuuucu gccuccugga ggccggccug gccggcgagg ugaagaaacc
301 ugcagccgca gcagcuccug gcacugcgga gaaguugagc cccaaggcgg ccacgcuugc
361 cgagcgcagc gccggccugg ccuucagcuu guaccaggcc auggccaagg accaggcagu
421 ggagaacauc cuggugucac ccgugguggu ggccucgucg cuagggcucg ugucgcuggg
481 cggcaaggcg accacggcgu cgcaggccaa ggagugcug agcgccgagc agcugcgcg
541 cgaggaggug cagcggggcc ugggagagcu gcugcgcuca cucagcaacu ccacggcgcg
601 caacgugacc uggaagcugg gcagccgacu guacggaccc agcucaguga gcuucgcuga
661 ugacuucgug cgcagcagca agcagcacua caacugcgag cacuccaaga ucaacuuccg
721 cgacaagcgc agcgcgcugc aguccaucaa cgaguggggc gcgcagacca ccgacggcaa
781 gcugcccgag guaccaagg acguggagcg cacggacggc gccugcuag ucaacgccau
841 guucuucaag ccacacuggg augagaaauu ccaccacaag augguggaca accguggcuu
901 cauggugacu cgguccuaua ccgugggugu caugaugaug caccggacag gccucuacaa
961 cuacuacgac gacgagaagg aaaagcugca aaucguggag augccccug gccacaagcu
1021 cuccagccuc aucauccuca ugccccauca cguggagccu cucgagcgcc uugaaaagcu
1081 gcuaaccaa gagcagcuga agaucuggau ggggaagaug cagaagaagg cuguugccau
1141 cuccuugccc aagguguggg uggaggugac ccaugaccug cagaaacacc uggcugggcu
1201 gggccugacu gaggccauug acaagaacaa ggccgacuug ucacgcaugu caggcaagaa
1261 ggaccugua cuggccagcg uguuccacgc caccgcccuu gaguuggaca cagauggcaa
1321 ccccuugac caggacauu acggggcgga ggagcugcg agccccaagc uguucuaagc
1381 cgaccacccc uucaucuucc uagugcgga caccacaagc ggcucccugc uauucauagg
1441 gcgccugguc cggccuaagg gugacaagau gcgagacgag uuauagggcc ucaggggugca
1501 cacaggauug caggaggcau ccaaaggcuc cugagacaca ugggugcuau uggggguagg
1561 ggggagguga gguaccagcc uuggauacuc cauggggugg ggguggaaaa acagaccggg
1621 guucccgugu gccugagcgg accuucccag cuagaauuca cuccaauug acauggggcc
1681 cagauaccau gaugcugagc ccggaacuc cacaucugc gggaccuggg ccuagucacu
1741 ucugccugcc cugaaagucc cagaucagc cugccucaau caguauucau auuuauagcc
1801 agguaccuuc ucaccuguga gaccaaauug agcuaggggg gucagccagc ccucuucuga
1861 cacuaaaaca ccucagcugc cucccccagc cuaucccaac cucucccaac uauaaaaa
1921 ggugcugcag cccuggggac caggcacccc cagaauagac uggcccgagu gagggcgauu
1981 gagaaggagc ucccaggagg ggcuucuggg cagacucugc ucaagaagca ucgugucugg
2041 cguugugggg augaacuuuu uguuuuguuu cuuccuuuuu uaguucuuca aagauaggga
2101 ggggaagggg aacaugagcc uuuguugcua ucaauccaag aacuuuuuu uacuuuuuu
2161 uuuucaauaa aacuuuucca augacauuuu guuggagcgu ggaaaaaa (SEQ ID NO: 1)

```

FIGURA 7 (secuencia de proteína NP_001226)

```

1  MRSLLLLSAF  CLLEAALAAE  VKKPAAAAAP  GTAEKLSPKA  ATLAERSAGL  AFSLYQAMAK
61  DQAVENILVS  PVVVASSLGL  VSLGGKATTA  SQAKAVLSAE  QLRDEEVHAG  LGELLRSLSN
121 STARNVTWKL  GSRLYGPSSV  SFADDFVRSS  KQHYNCEHSK  INFRDKRSAL  QSINEWAAQT
181 TDGKLPEVTK  DVERTDGALL  VNAMEFFKPHW  DEKFHHKMVD  NRGFMVTRSY  TVGVMMMHRT
241 GLYNYDDEK  EKLQIVEMPL  AHKLSSLIIL  MPHHVEPLER  LEKLLTKEQL  KIWMGKMOKK
301 AVAISLPKGV  VEVTHDLQKH  LAGLGLTEAI  DKNKADLSRM  SGKKDLYLAS  VFHATAFELD
361 TDGNPFDQDI  YGREELRSPK  LFYADHPFIF  LVRDTQSGSL  LFIGRLVRPK  GDKMRDEL
  (SEQ ID NO: 2)

```

FIGURA 8 (secuencia de codificación de NP_001235)

```

1  atgcgctccc  tcttgccttc  cagcgccttc  tgctctctgg  aggcggccct  ggcgcgcgag
61  gtgaagaaac  ctgcagccgc  agcagctcct  ggcaactgcg  agaagttgag  cccaagggcg
121 gccacgcttg  ccgagcgcag  cgccggcctg  gccttcagct  tgtaccaggc  catggccaag
181 gaccaggcag  tggagaacat  cctgggtgtca  cccgtgggtg  tggcctcgtc  gctagggctc
241 gtgtcgctgg  gcggcaaggc  gaccacggcg  tcgcaggcca  aggcagtgtc  gagcgccgag
301 cagctgcgcg  acgaggaggt  gcacgcgcgc  ctgggcgagc  tgctgcgctc  actcagcaac
361 tccacggcgc  gcaacgtgac  ctggaagctg  ggcagccgac  tgtaaggacc  cagctcagtg
421 agcttcgctg  atgacttcgt  gcgcagcagc  aagcagcact  acaactgcga  gcaactccaag
481 atcaacttcc  gcgacaagcg  cagcgcgctg  cagtccatca  acgagtgggc  cgcgagacc
541 accgacggca  agctgcccga  ggtaaccaag  gacgtggagc  gcaaggacgg  cgccctgcta
601 gtcaacgcca  tgttcttcaa  gccacactgg  gatgagaaat  tccaccacaa  gatgggtggac
661 aaccgtggct  tcatgggtgac  tcggctctat  accgtgggtg  tcatgatgat  gcaccggaca
721 ggctcttaca  actactacga  cgacgagaag  gaaaagctgc  aaatcgtgga  gatgcccctg
781 gcccaacaag  tctccagcct  catcatcctc  atgccccatc  acgtggagcc  tctcgagcgc
841 cttgaaaagc  tgctaaccac  agagcagctg  aagatctgga  tggggaagat  gcagaagaag
901 gctgttgcca  tctccttgcc  caagggtgtg  gtggaggtga  cccatgacct  gcagaaacac
961 ctggctgggc  tgggcctgac  tgaggccatt  gacaagaaca  aggcgcgact  gtcacgcagc
1021 tcaggcaaga  aggacctgta  cctggccagc  gtgttccacg  ccaccgcctt  tgagttggac
1081 acagatggca  acccctttga  ccaggacatc  tacgggcgcg  aggagctgcg  cagccccaag
1141 ctgtttctacg  ccgaccaccc  ctcatcttcc  ctagtgcggg  acacccaaag  cggctccctg
1201 ctattcattg  ggcgcctggt  ccggcctaag  ggtgacaaga  tgcgagacga  gttatag
  (SEQ ID NO: 59)

```

FIGURA 9A

Plasma humano normal, horas

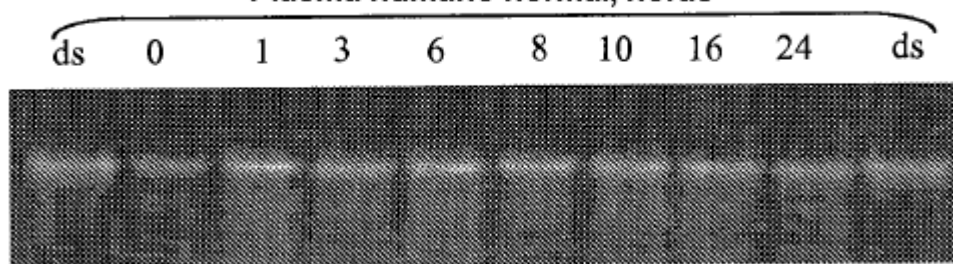


FIGURA 9B

Plasma humano normal, horas

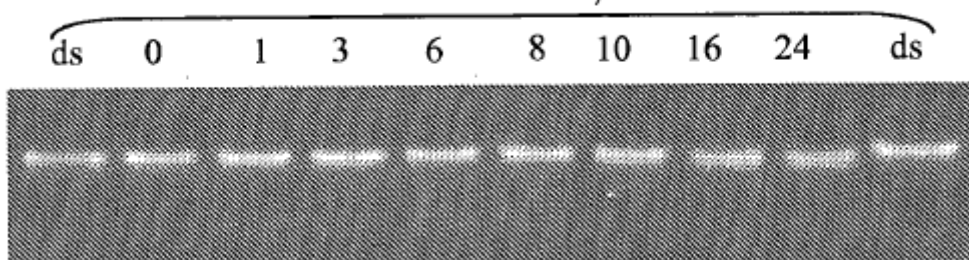
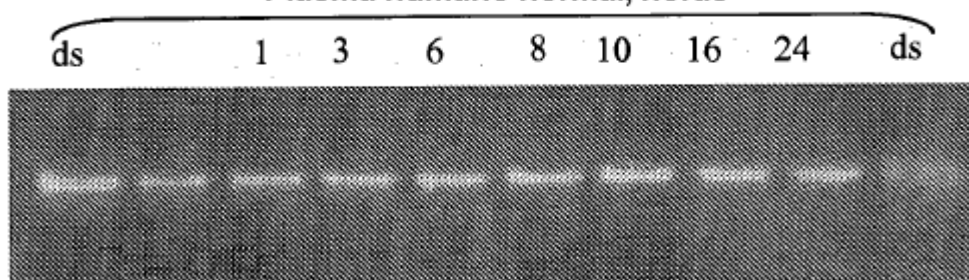


FIGURA 9C

Plasma humano normal, horas



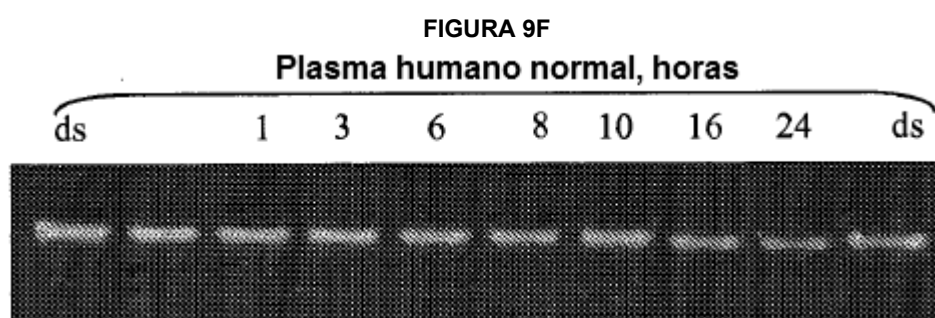
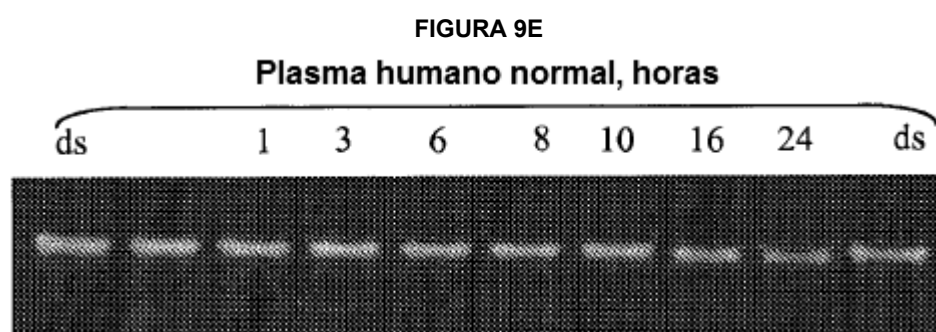
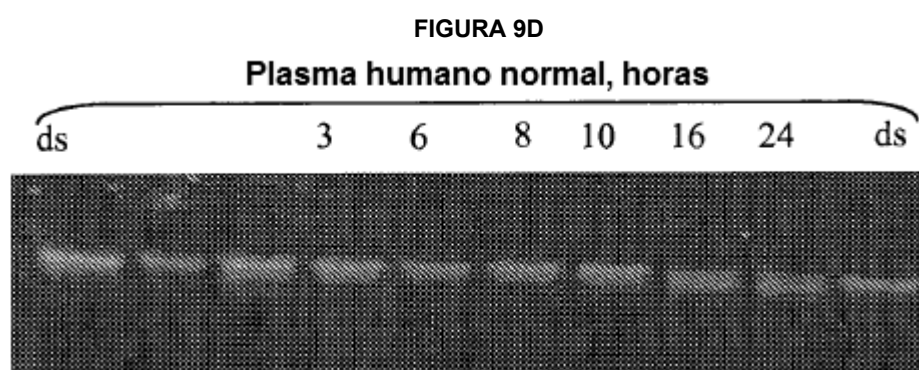


FIGURA 9G

Plasma humano normal, horas

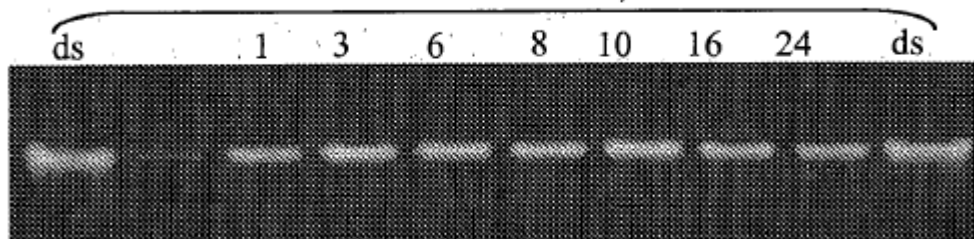


FIGURA 9H

Plasma humano normal, horas

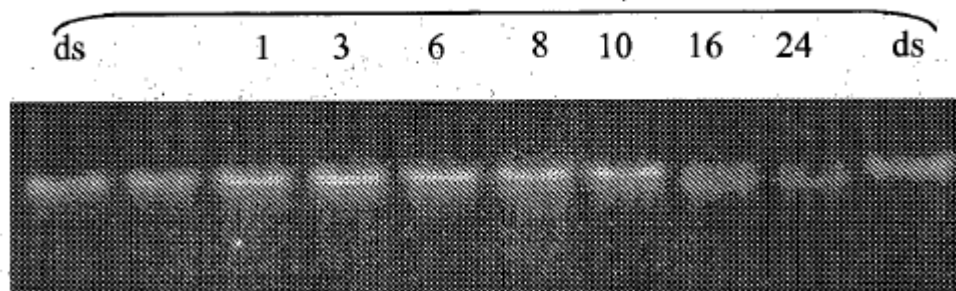


FIGURA 9I

Plasma humano normal, horas

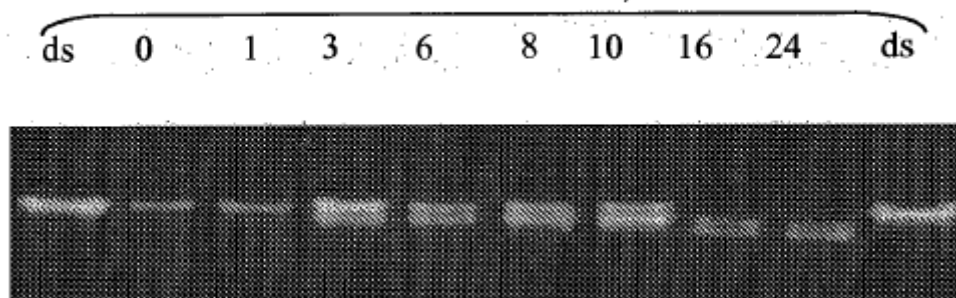


FIGURA 10A

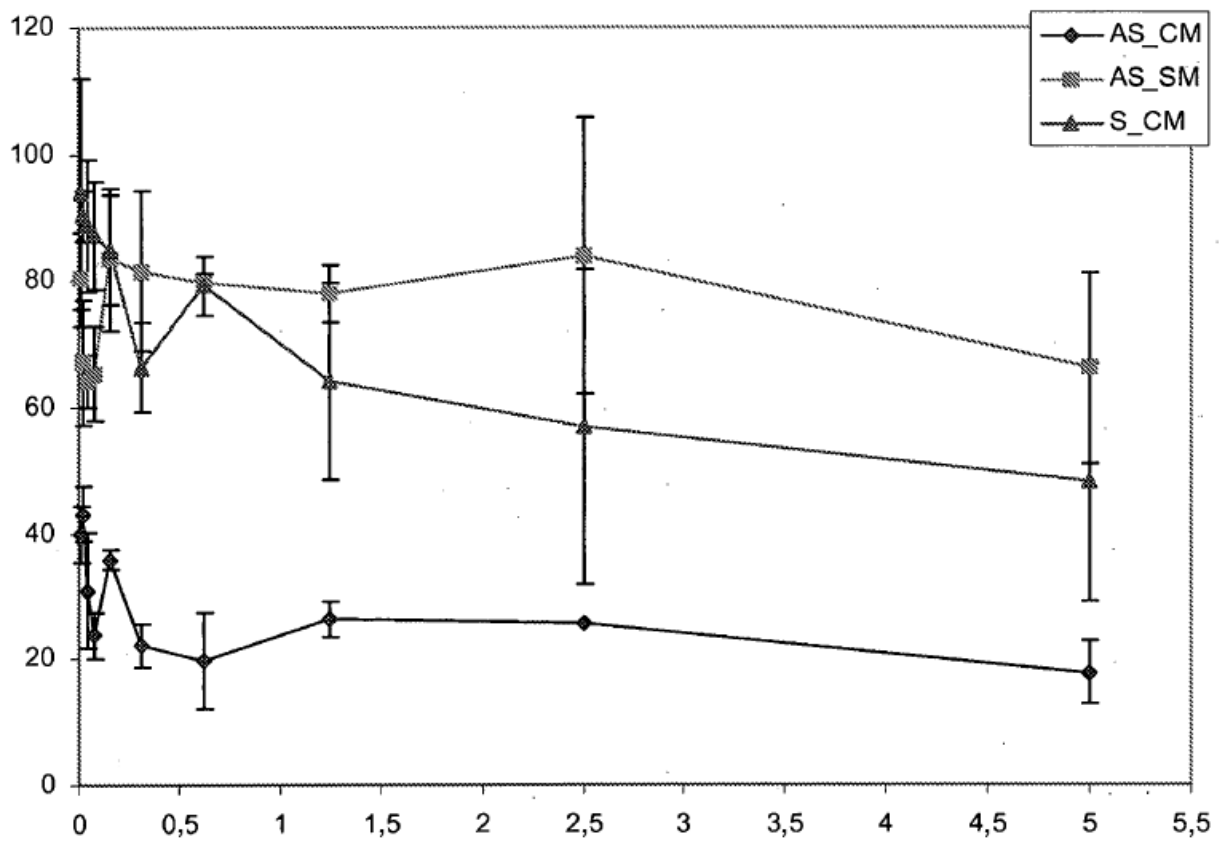


FIGURA 10B

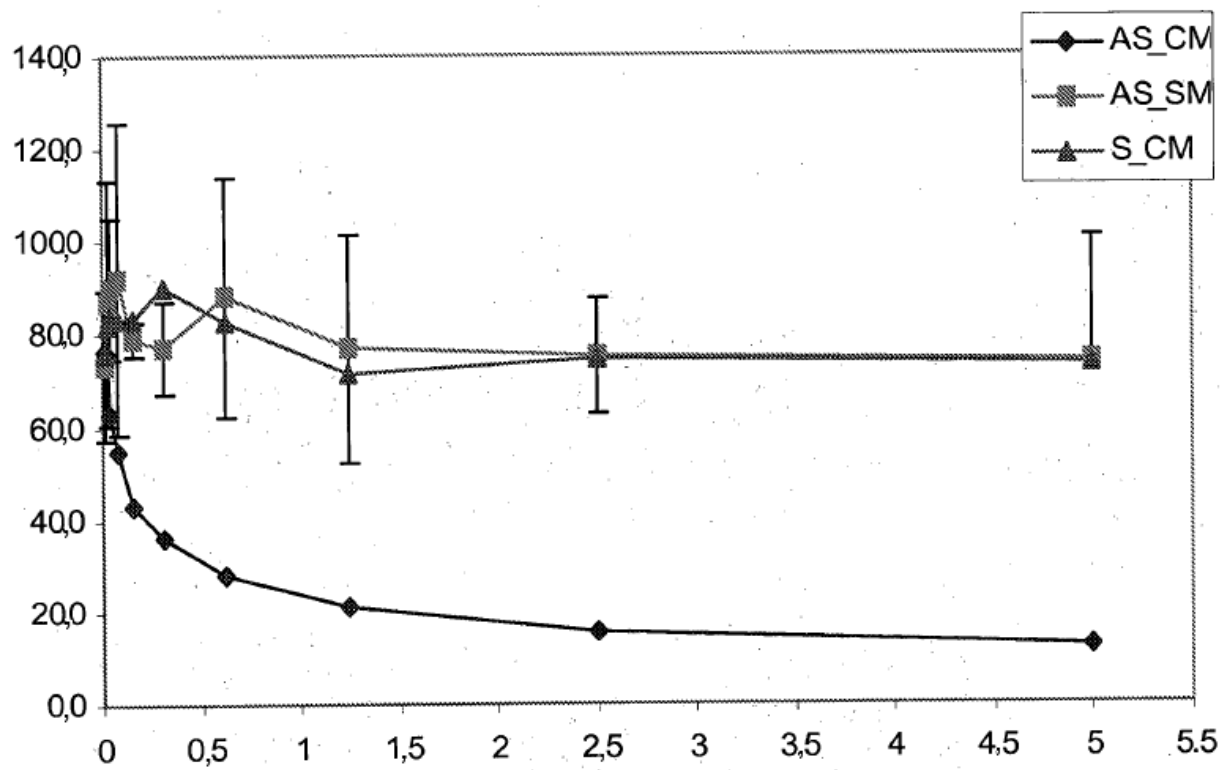


FIGURA 10C

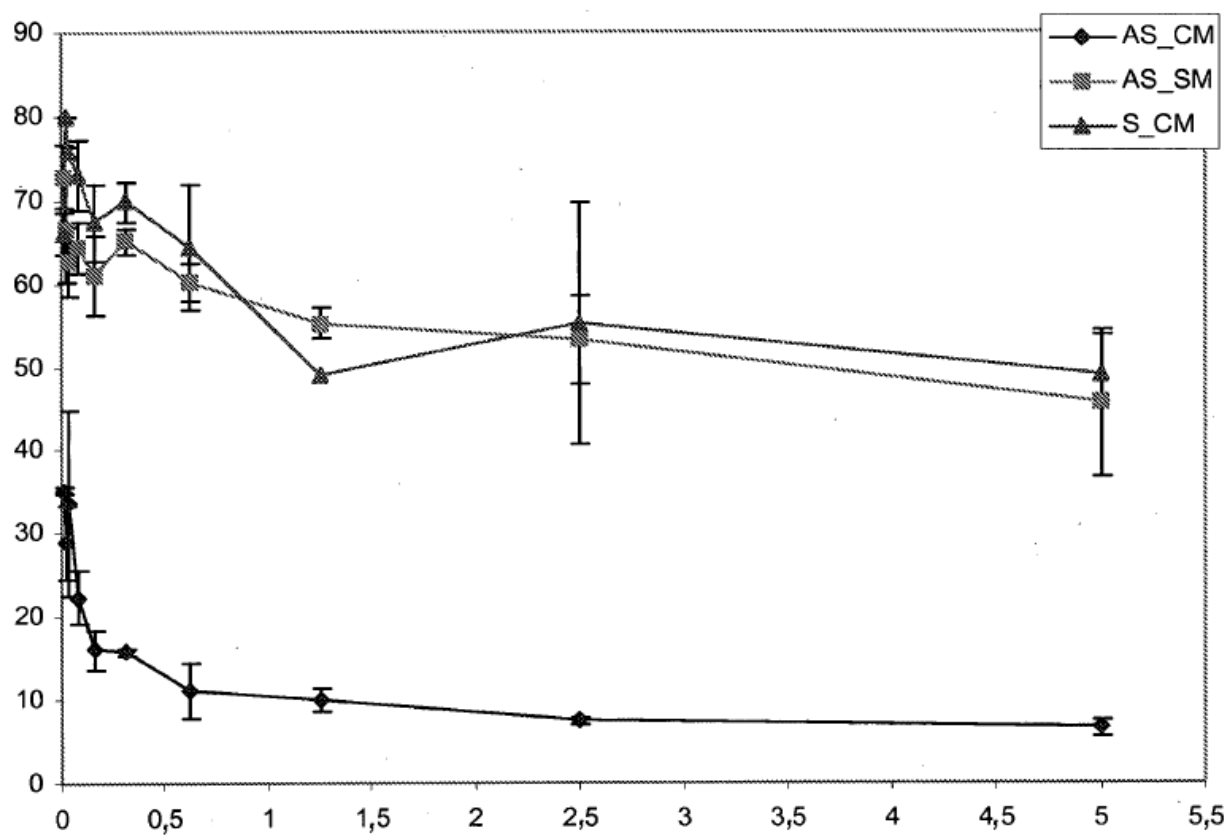


FIGURA 10D

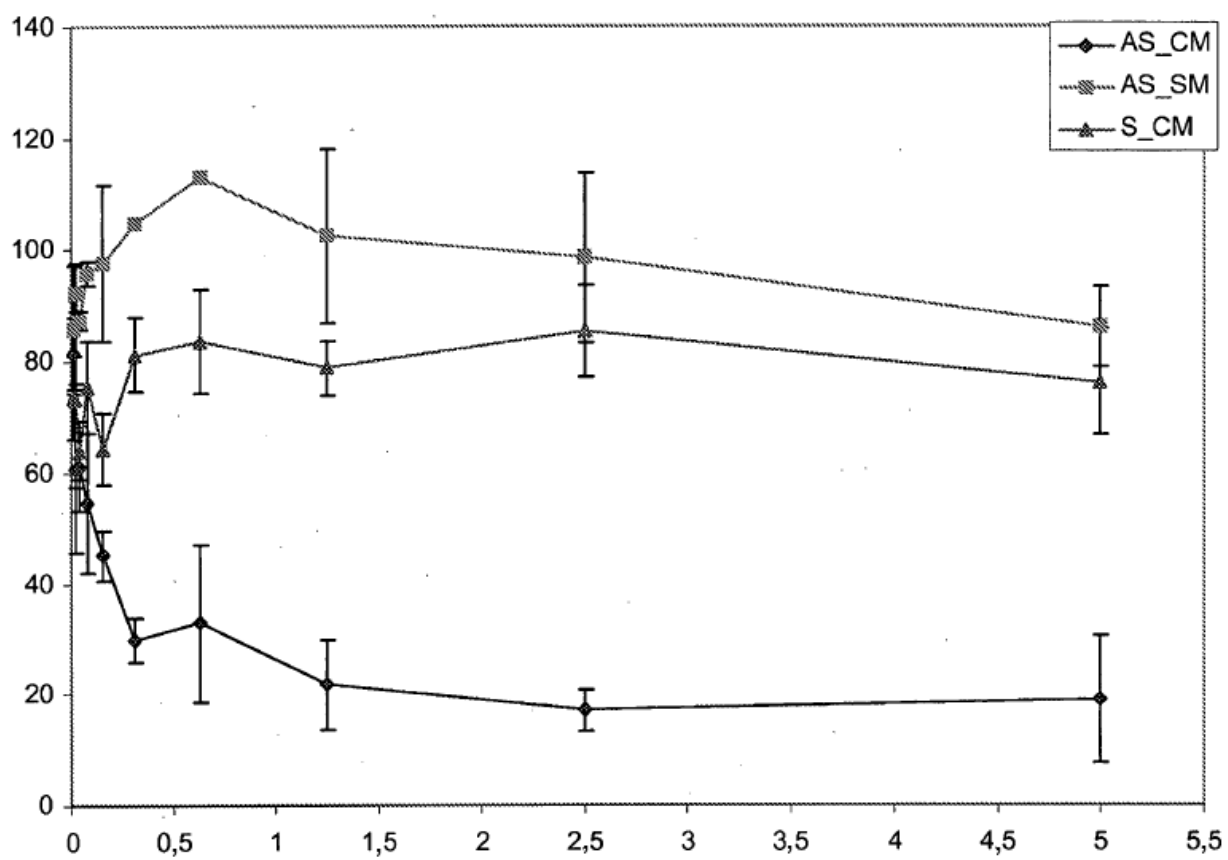


FIGURA 10E

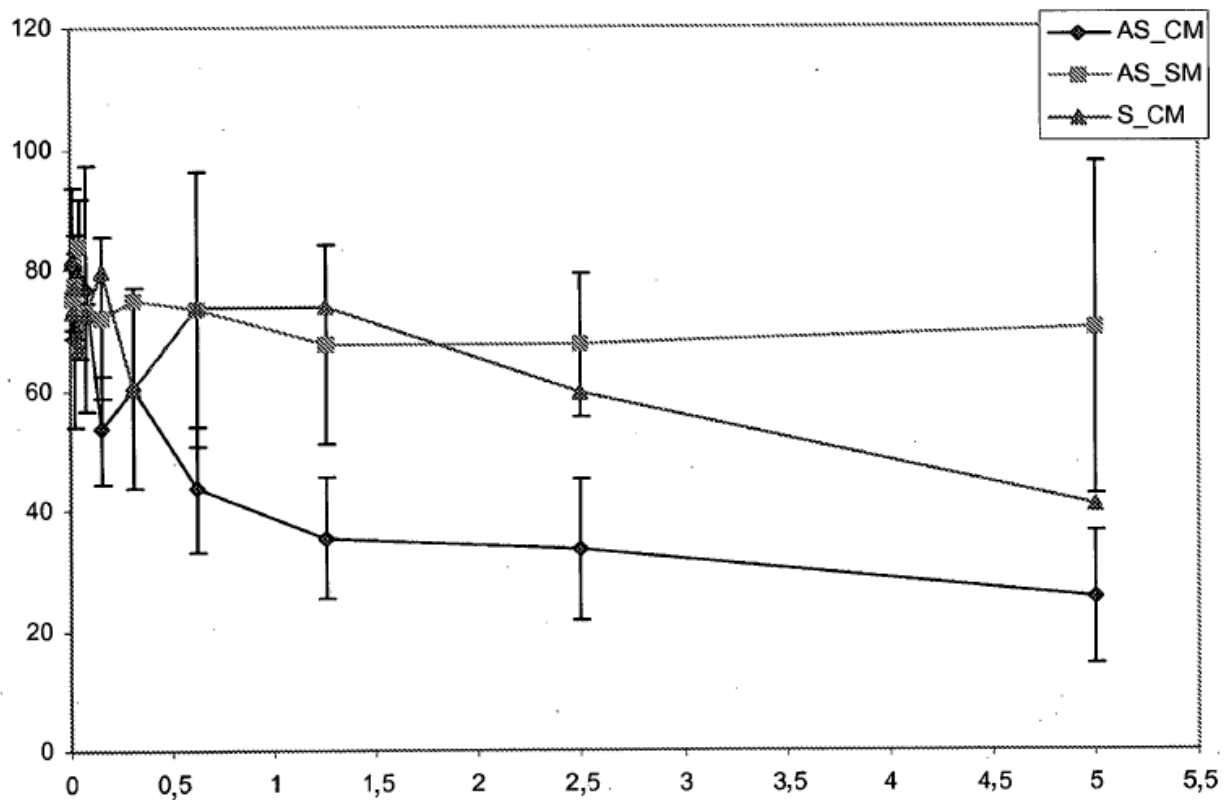


FIGURA 10F

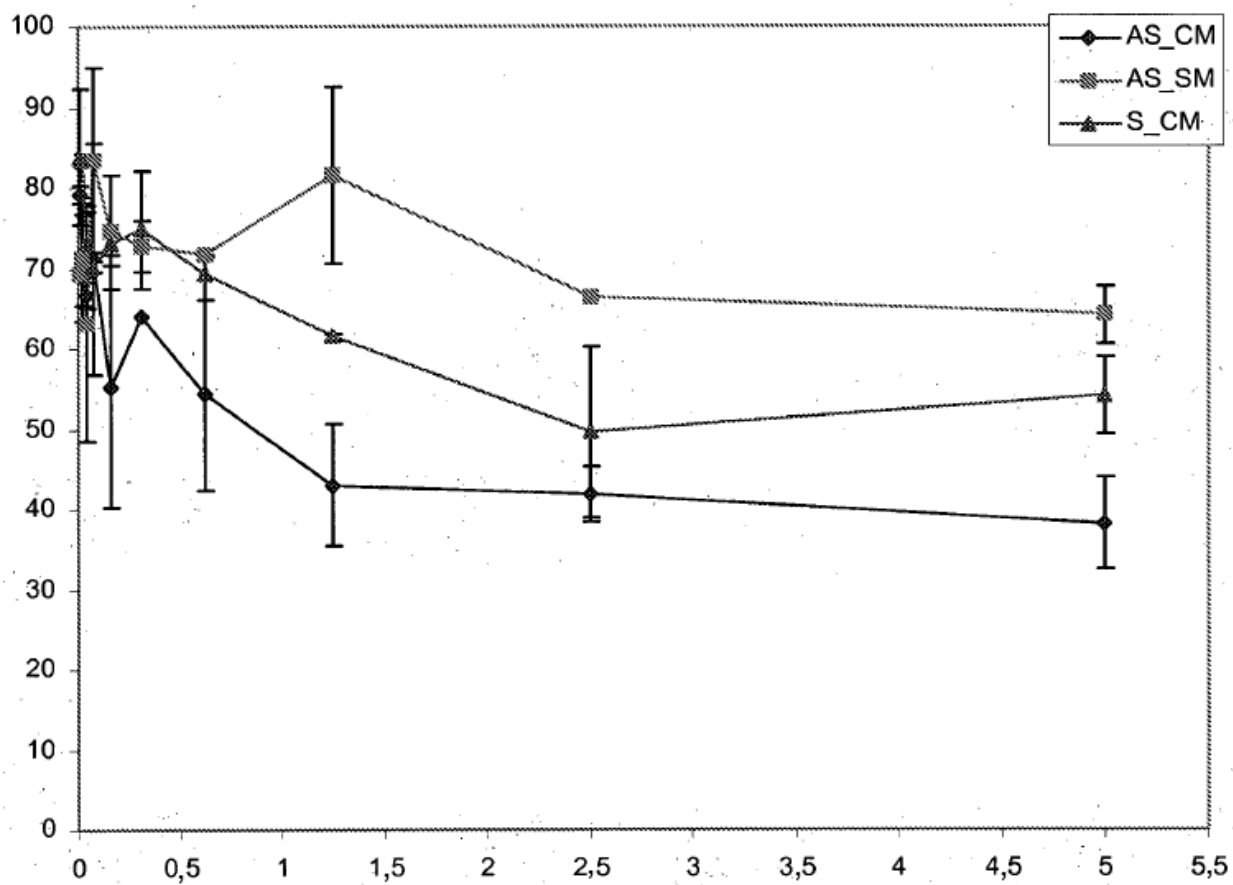


FIGURA 10G

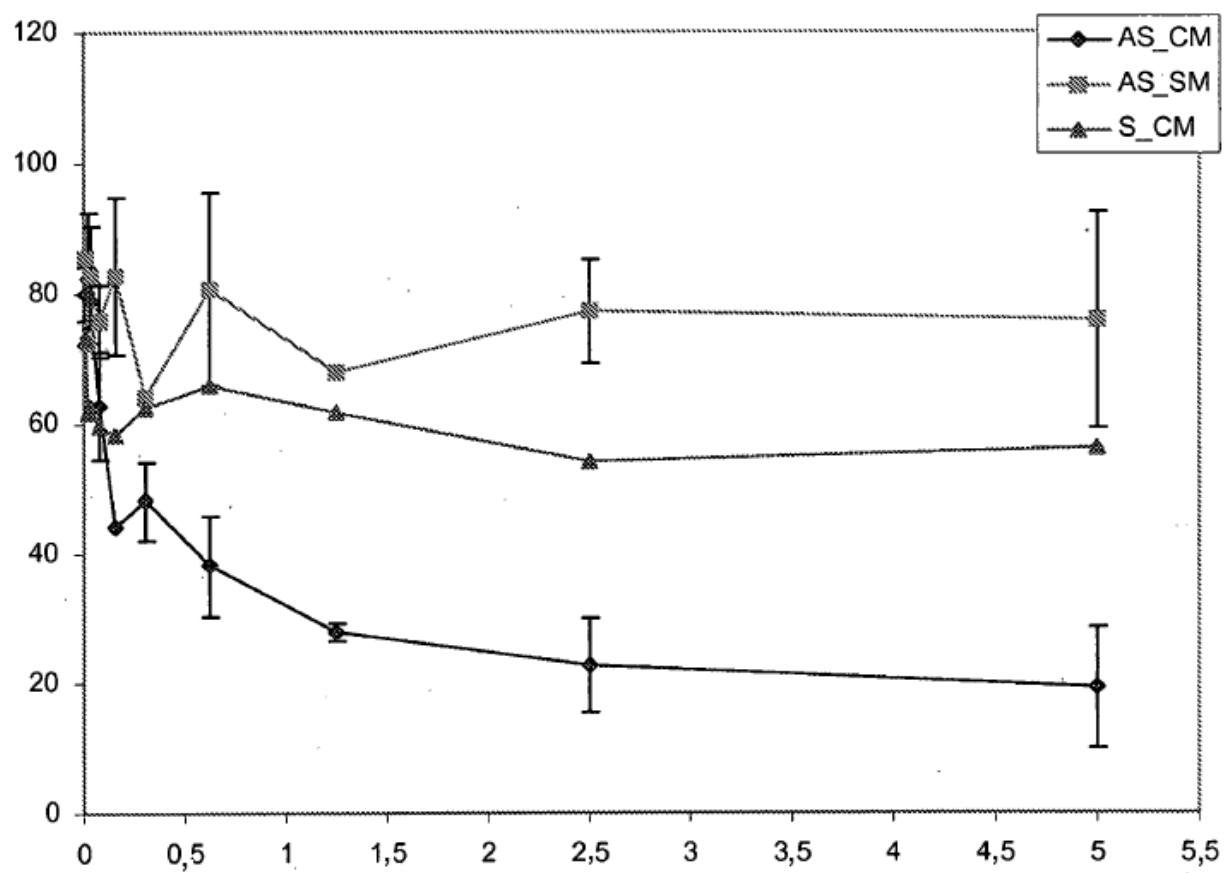


FIGURA 10H

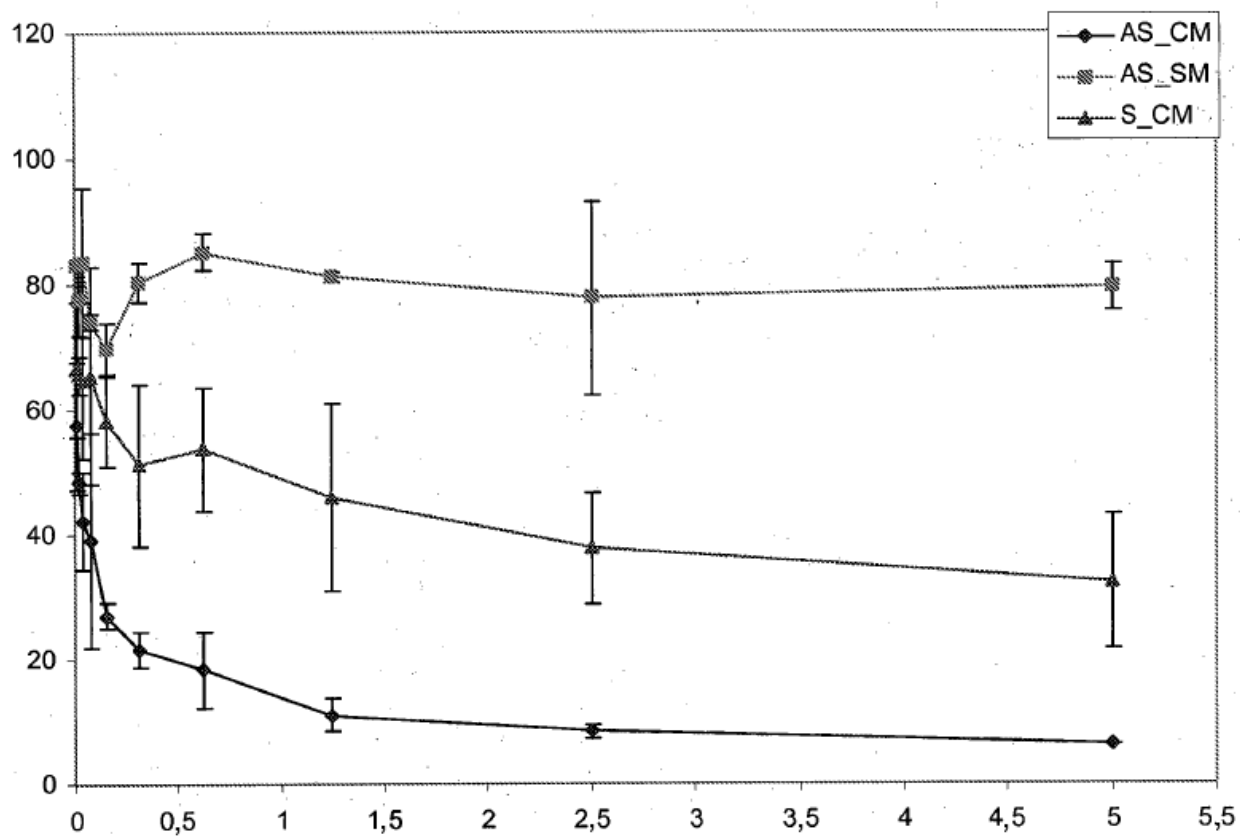


FIGURA 10I

