

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 714 787**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/113** (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2009** **E 16172354 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2018** **EP 3133160**

54 Título: **Composiciones de omisión exónica para DMD**

30 Prioridad:

**24.10.2008 US 108416 P**

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

**30.05.2019**

73 Titular/es:

**SAREPTA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)**  
**215 First Street**  
**Cambridge, US**

72 Inventor/es:

**SAZANI, PETER y**  
**KOLE, RYSZARD**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**Observaciones:**

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

**ES 2 714 787 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).

## DESCRIPCION

Composiciones de omisión exónica para DMD

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos compuestos y composiciones antisentido adecuadas para facilitar la omisión de exones en el gen de la distrofina humana. Proporciona además la utilización de las composiciones antisentido para la inducción de la omisión de exones.

10

**Antecedentes de la invención**

Se están desarrollando tecnologías antisentido utilizando una serie de procesos químicos para afectar a la expresión génica en una diversidad de niveles diferentes (transcripción, corte y empalme, estabilidad, traducción). Gran parte de esa investigación se ha centrado en el uso de compuestos antisentido para corregir o compensar genes anómalos o asociados a enfermedad en un amplio abanico de indicaciones. Las moléculas antisentido son capaces de inhibir la expresión génica de manera específica y por ello se han realizado numerosos esfuerzos relacionados con los oligonucleótidos como moduladores de la expresión génica centrados en inhibir la expresión de genes diana o el funcionamiento de los elementos de acción en cis. Los oligonucleótidos antisentido típicamente están dirigidos contra el ARN, la cadena de sentido (p.ej., el ARNm) o la cadena negativa en el caso de algunos ARN diana víricos. Para conseguir un efecto deseado de regulación génica negativa específica, los oligonucleótidos generalmente estimulan la degradación del ARNm diana, bloquean la traducción del ARNm o bloquean la función de los elementos de ARN de acción en cis, impidiendo eficazmente de esta manera la síntesis *de novo* de la proteína diana o la replicación del ARN vírico.

25

Sin embargo, dichas técnicas no resultan útiles en los casos en que el objetivo es regular positivamente la producción de la proteína nativa o compensar mutaciones que inducen la terminación prematura de la traducción, tales como mutaciones sin sentido o de desplazamiento del marco de lectura. En estos casos, el transcrito defectuoso del gen no debería someterse a degradación dirigida o inhibición estérica, por lo que el proceso químico del oligonucleótido antisentido no debería estimular la degradación del ARNm diana o bloquear la traducción.

30

En una diversidad de enfermedades genéticas, los efectos de las mutaciones sobre la expresión final de un gen pueden modularse a través de un procedimiento dirigido de omisión exónica durante el proceso de corte y empalme. El proceso de corte y empalme está dirigido por una compleja maquinaria multicomponente que reúne en estrecha proximidad las uniones exón-intrón contiguas en el pre-ARNm y realiza el corte de los enlaces fosfodiéster en los extremos de los intrones con su posterior reforma entre los exones que van a cortarse y empalmarse entre sí. Este proceso complejo y de elevada precisión está mediado por motivos de secuencia en el pre-ARNm que son segmentos de ARN relativamente cortos y semiconservados a los que se unen los diversos factores nucleares de corte y empalme que participan después en las reacciones de corte y empalme. Mediante la modificación de la forma en que la maquinaria de corte y empalme lee o reconoce los motivos que participan en el procesamiento del pre-ARNm, resulta posible crear moléculas de ARNm cortadas y empalmadas de forma diferencial. Actualmente se ha reconocido que la mayoría de los genes humanos se cortan y empalman de forma alternativa durante la expresión génica normal, aunque no se han identificado los mecanismos implicados.

35

40

45

En los casos en que una proteína normalmente funcional es terminada prematuramente debido a mutaciones en la misma, se ha demostrado que resulta posible un medio para restaurar cierta cantidad de producción de proteína funcional mediante tecnología antisentido, mediante la intervención durante los procesos de corte y empalme, y que, si pueden delecionarse específicamente exones asociados a mutaciones causantes de enfermedad de algunos genes, en ocasiones puede producirse un producto proteico acortado que presenta propiedades biológicas similares a las de la proteína nativa o que presenta suficiente actividad biológica para mejorar la enfermedad causada por mutaciones asociadas al exón (Sierakowska, Sambade et al. 1996; Wilton, Lloyd et al. 1999; van Deutekom, Bremmer-Bout et al. 2001; Lu, Mann et al. 2003; Aartsma-Rus, Janson et al. 2004). Kole et al. (patentes US nº 5.627.274, nº 5.916.808, nº 5.976.879 y nº 5.665.593) dan a conocer métodos para combatir el corte y empalme aberrantes utilizando análogos de oligonucleótido antisentido modificado que no estimulan la degradación del pre-ARNm diana. Bennett et al. (patente US nº 6.210.892) describen la modulación antisentido del procesamiento del ARNm celular de tipo salvaje que también utiliza análogos de oligonucleótido antisentido que no inducen el corte mediado por ARNasa H del ARN diana.

50

55

El procedimiento de omisión exónica dirigida probablemente resultará particularmente útil en genes largos, donde hay muchos exones e intrones, donde existe redundancia en la constitución genética de los exones o donde una proteína es capaz de funcionar sin uno o más exones particulares. Los esfuerzos por redirigir el procesamiento génico al tratamiento de enfermedades genéticas asociadas a truncados causados por mutaciones en diversos genes se han centrado en la utilización de oligonucleótidos antisentido que: (1) se solapan total o parcialmente con los elementos que participan en el proceso de corte y empalme, o (2) se unen al pre-ARNm en una posición suficientemente próxima al elemento para alterar la unión y funcionamiento de los factores de corte y empalme que normalmente mediarían en una reacción particular de corte y empalme que se produce en ese elemento.

60

65

La distrofia muscular de Duchenne (DMD) está causada por un defecto en la expresión de la proteína distrofina. El gen codificante de la proteína contiene 79 exones extendidos a lo largo de más de 2 millones de nucleótidos de ADN. Cualquier mutación exónica que modifique el marco de lectura del exón o introduzca un codón de parada o se caracterice por la eliminación de un exón o exones completamente fuera de marco o duplicaciones de uno o más exones, presenta el potencial de alterar la producción de la distrofina funcional, resultando en DMD.

Una forma menos grave de distrofia muscular, la distrofia muscular de Becker (DMB) se ha encontrado que aparece donde una mutación, típicamente una deleción de uno o más exones, resulta en un marco de lectura correcto a lo largo del transcrito entero de la distrofina de manera que la traducción del ARNm en proteína no se termina prematuramente. En el caso de que la unión de los exones cadena arriba y cadena abajo en el procesamiento de un pre-ARNm de distrofina mutado mantenga el marco de lectura correcto del gen, el resultado será un ARNm codificante de una proteína con una deleción interna corta que conserva algo de actividad, resultando en un fenotipo de Becker.

Las deleciones de un exón o exones que no alteran el marco de lectura de una proteína distrofina dan lugar a un fenotipo DMB, mientras que una deleción de exón que causa un desplazamiento de marco dará lugar a DMD (Monaco, Bertelson et al., 1988). En general, las mutaciones de la distrofina, incluyendo las mutaciones puntuales y las deleciones de exones que cambian el marco de lectura y, de esta manera, interrumpen una traducción correcta de la proteína resultan en DMD. Debe indicarse que algunos pacientes de DMB y DMD presentan deleciones exónicas que cubren múltiples exones.

Aunque las moléculas antisentido pueden proporcionar una herramienta en el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne (DMD), los intentos de inducir la omisión exónica utilizando moléculas antisentido no siempre han tenido éxito. La omisión con éxito del exón 19 de la distrofina en el pre-ARNm de la distrofina se ha conseguido utilizando una diversidad de moléculas antisentido dirigidas a los sitios o motivos de corte y empalme flanqueantes dentro del exón implicado en la definición del exón, tal como describen Errington et al. (Errington, Mann et al., 2003).

El primer ejemplo de omisión exónica específica y reproducible en el modelo de ratón *mdx* fue informado por Wilton et al. (Wilton, Lloyd et al., 1999). Mediante la dirección de una molécula antisentido al sitio de corte y empalme donante, se indujo la omisión del exón 23 en el ARNm de la distrofina a las 6 horas de tratamiento de las células cultivadas. Wilton et al. también describen el uso como diana de la región aceptora del pre-ARNm de la distrofina de ratón con oligonucleótidos antisentido más largos. Aunque el primer oligonucleótido antisentido dirigido al sitio de corte y empalme donante del intrón 23 inducía la omisión de exones en mioblastos en cultivo primario, se encontró que este compuesto era mucho menos eficiente en cultivos de células inmortalizadas que expresaban niveles más elevados de distrofina.

El documento nº WO2006/00057 da a conocer oligonucleótidos antisentido para la inducción de omisión exónica en el gen de la distrofina.

A pesar de estos esfuerzos, sigue existiendo una necesidad de oligómeros antisentido mejorados con diana en múltiples exones de la distrofina y composiciones y métodos de administración muscular mejorados para aplicaciones terapéuticas de la DMD.

#### Breve descripción resumida de la invención

En una realización, la presente invención proporciona un oligonucleótido antisentido que contiene 20 a 35 subunidades morfolino unidas mediante enlaces intersubunidad que contienen fósforo que unen un nitrógeno de morfolino de una subunidad con un carbono exocíclico 5' de una subunidad contigua, que comprende una secuencia de bases de SEC ID nº 382, o una secuencia que presenta una identidad de secuencias con la misma de por lo menos 80%, en la que las bases de timina son opcionalmente bases de uracilo, y en la que el oligonucleótido antisentido es complementario al pre-ARNm de la distrofina humana, induciendo la omisión del exón 52, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la presente invención y un portador y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la presente invención proporciona el oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la presente invención, o la composición farmacéutica según la presente invención para la utilización en el tratamiento de la distrofia muscular.

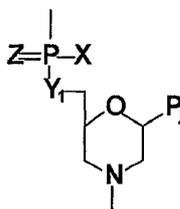
Realizaciones de la presente invención se refieren de manera general a compuestos antisentido capaces de unirse a una diana seleccionada para inducir la omisión exónica, y a métodos de utilización de los mismos para inducir la omisión exónica. Resulta posible combinar dos o más oligonucleótidos antisentido para inducir la omisión de uno o más exones.

En determinadas realizaciones, resulta posible mejorar la omisión exónica de uno o múltiples exones mediante la unión covalente de dos o más moléculas de oligonucleótido antisentido (ver, p.ej., Aartsma-Rus, Janson et al., 2004).

5 En determinadas realizaciones, los compuestos antisentido de la presente invención inducen la omisión exónica en el gen de la distrofina humana y permiten de esta manera que las células musculares produzcan una proteína distrofina funcional.

10 Los presentes inventores describen en la presente memoria compuestos oligonucleótidos antisentido (también denominados en la presente memoria oligómeros) que típicamente: (i) comprenden subunidades morfolino y enlaces intersubunidad que contienen fósforo que unen un nitrógeno de morfolino de una subunidad con un carbono exocíclico 5' de una subunidad contigua, (ii) contienen entre 10 y 40 bases nucleótidas, preferentemente 20 a 35 bases, (iii) comprenden una secuencias de bases efectiva para hibridarse con por lo menos 12 bases contiguas de una secuencia diana en el pre-ARNm de la distrofina e inducir la omisión exónica.

15 En determinadas realizaciones, los compuestos antisentido de la presente invención pueden comprender enlaces intersubunidad que contienen fósforo que unen un nitrógeno de morfolino de una subunidad con un carbono exocíclico 5' de una subunidad contigua, de acuerdo con la estructura (I) a continuación:



(I)

20 en la que:

Y<sub>1</sub> es -O-, -S-, -NH- o -CH<sub>2</sub>-,

Z es O o S,

P<sub>j</sub> es una fracción de apareamiento con base purina o pirimidina eficaz para la unión, mediante enlace de hidrógeno específico de base, a una base en un polinucleótido, y

X es flúor, opcionalmente alquilo sustituido, alcoxi sustituido opcionalmente, tioalcoxi sustituido opcionalmente, amino, alquilamino sustituido opcionalmente o heterociclilo sustituido opcionalmente.

25 En determinadas realizaciones, los enlaces intersubunidad anteriormente indicados, que no presentan carga, pueden intercalarse con enlaces con carga positiva a pH fisiológico, en donde el número total de enlaces con carga positiva es de entre 2 y no más de la mitad del número total de enlaces. Por ejemplo, los enlaces con carga positiva pueden presentar la estructura anteriormente indicada, en la que X es 1-piperazinilo sustituido opcionalmente. En otras realizaciones, los enlaces con carga positivo pueden presentar la estructura anteriormente indicada, en la que X es 1-piperazinilo sustituido, en el que el 1-piperazinilo se sustituye en la posición 4 con una fracción alquilguanidinilo sustituida opcionalmente.

35 En donde el compuesto antisentido administrado resulta eficaz en el reconocimiento de un sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada, puede presentar una secuencia de bases complementaria a una región diana que contiene por lo menos 12 bases contiguas en un transcrito de distrofina humana de ARN mensajero (ARNm) preprocesado. Entre las secuencias antisentido ejemplares se incluyen las identificadas con SEC ID n° 1 a 569 y 612 a 633.

40 En la presente memoria se dan a conocer además secuencias antisentido contenidas dentro de:

- 45 (a) cualquiera de las secuencias identificadas con las SEC ID n° 1 a 20, preferentemente las SEC ID n° 4, 8, 11 y 12, y más preferentemente SEC ID n° 12 para la utilización en la producción de la omisión del exón 44 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,
- 50 (b) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID n° 21 a 76 y 612 a 624, preferentemente las SEC ID n° 27, 29, 34 y 39, y más preferentemente la SEC ID n° 34 para la utilización en la producción de la omisión del exón 45 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,
- (c) cualquiera de las secuencias identificadas con las SEC ID n° 77 a 125, preferentemente las SEC ID n° 21 a 53, y más preferentemente las SEC ID n° 82, 84-87, 90, 96, 98, 99 y 101 para la utilización en la producción de la omisión del exón 46 en el procesamiento del ARNm preprocesado de distrofina humana,
- 55 (d) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID n° 126 a 169, preferentemente las SEC ID n° 126 a 149, y más preferentemente las SEC ID n° 126, 128 a 130, 132, 144 y 146 a 149, para la utilización en la producción de la omisión del exón 47 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,

(e) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID nº 170 a 224 y 634, preferentemente las SEC ID nº 170 a 201, y 634, y más preferentemente las SEC ID nº 176, 178, 181 a 183, 194 y 198 a 201, para la utilización en la producción de omisión del exón 48 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,

(f) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID nº 225 a 266, preferentemente las SEC ID nº 225 a 248, y más preferentemente las SEC ID nº 227, 229, 234, 236, 237 y 244 a 248, para la utilización en la producción de omisión del exón 49 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,

(g) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID nº 267 a 308, preferentemente las SEC ID nº 277, 287 y 290, y más preferentemente la SEC ID nº 287 para la utilización en la producción de la omisión del exón 50 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,

(h) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID nº 309 a 371, preferentemente las SEC ID nº 324, 326 y 327, y más preferentemente la SEC ID nº 327 para la utilización en la producción de la omisión del exón 51 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,

(i) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID nº 372 a 381 y 383 a 415, preferentemente las SEC ID nº 372 a 381 y 383 a 397, y más preferentemente las SEC ID nº 379 a 381, 384, 390 y 393 a 395 para la utilización en la producción de omisión del exón 52 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,

(j) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID nº 416 a 475 y 625 a 633, preferentemente las SEC ID nº 428, 429 y 431, y más preferentemente la SEC ID nº 429 para la utilización en la producción de la omisión del exón 53 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,

(k) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID nº 476 a 519, preferentemente las SEC ID nº 476 a 499, y más preferentemente las SEC ID nº 479 a 482, 484, 489 y 491 a 493, para la utilización en la producción de omisión del exón 54 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana, y

(l) cualquiera de las secuencias identificadas por las SEC ID nº 520 a 569 y 635, preferentemente las SEC ID nº 520 a 546 y 635, y más preferentemente las SEC ID nº 524 a 528, 537, 539, 540, 542 y 544 para la utilización en la producción de la omisión del exón 55 en el procesamiento del ARNm preprocesado de la distrofina humana,

En determinadas realizaciones, el compuesto puede conjugarse con un polipéptido rico en arginina eficaz para estimular la incorporación del compuesto en las células. Entre los péptidos ejemplares se incluyen los identificados por las SEC ID nº 570 a 578, entre otros indicados en la presente memoria.

En una realización ejemplar, el polipéptido rico en argininas se acopla covalentemente en su residuo de extremo N-terminal o C-terminal con el extremo 3' o 5' del compuesto antisentido.

En general, el conjugado de péptido-oligómero puede comprender además un péptido de localización que es selectivo para un tejido de mamífero seleccionado, es decir, el mismo tejido que es la diana del péptido de penetración celular. El conjugado puede presentar la forma de: péptido de penetración celular - péptido de localización - oligómero antisentido, o más preferentemente, la forma de: péptido de localización - péptido de penetración celular - oligómero antisentido. Por ejemplo, un compuesto conjugado de péptido para la utilización en el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne, tal como se ha descrito anteriormente, puede comprender además un péptido de localización que sea selectivo para el tejido muscular, tal como el péptido con la secuencia identificada como SEC ID nº 579, conjugado con el péptido de penetración celular. Entre los conjugados ejemplares de este tipo se incluyen los representados en la presente memoria como CP06062-MSP-PMO (péptido de penetración celular - péptido de localización - oligómero antisentido) y como MSP-CP06062-PMO (péptido de localización - péptido de penetración celular - oligómero antisentido) (ver las SEC ID nº 580 a 583).

En algunas realizaciones, el péptido se conjugado con el oligómero mediante una fracción conectora. En determinadas realizaciones, la fracción conectora puede comprender una fracción piperazínico sustituida opcionalmente. En otras realizaciones, la fracción conectora puede comprender además una subunidad beta-alanina y/o ácido 6-aminoheptanoico. En todavía otras realizaciones, el péptido se conjuga directamente con el oligómero sin una fracción conectora.

La conjugación del péptido con el oligómero puede encontrarse en cualquier posición adecuada para formar un enlace covalente entre el péptido y el oligómero o entre la fracción conectora y el oligómero. Por ejemplo, en algunas realizaciones la conjugación del péptido puede realizarse en el extremo 3' del oligómero. En otras realizaciones, la conjugación del péptido con el oligómero puede realizarse en el extremo 5' del oligómero. En todavía otras realizaciones, el péptido puede conjugarse con el oligómero mediante cualquiera de los enlaces intersubunidad.

En algunas realizaciones, el péptido se conjuga con el oligómero en el extremo 5' del oligómero. El péptido puede conjugarse con el oligómero mediante un enlace covalente con el fósforo del grupo de enlace terminal. La conjugación de esta manera puede producirse con o sin la fracción conectora indicada anteriormente.

En todavía otras realizaciones, el péptido puede conjugarse con el oligómero en el extremo 3' del oligómero. En algunas realizaciones adicionales, el péptido puede conjugarse con el átomo de nitrógeno del grupo morfolino 3'-terminal del oligómero. A este respecto, el péptido puede conjugarse con el oligómero directamente o mediante la fracción conectora indicada anteriormente.

- 5 En algunas realizaciones, el oligómero puede conjugarse con una fracción que potencia la solubilidad del oligómero en medio acuoso. En algunas realizaciones, la fracción que potencia la solubilidad del oligómero en medio acuoso es un polietilenglicol. En realizaciones todavía adicionales, la fracción que potencia la solubilidad del oligómero en medio acuoso es trietilenglicol. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la fracción que potencia la solubilidad en medio acuoso puede conjugarse con el oligómero en el extremo 5' del oligómero. La conjugación de la fracción que potencia la solubilidad del oligómero en medio acuoso con el oligómero puede realizarse directamente o mediante la fracción conectora indicada anteriormente.
- 10 Determinadas realizaciones de la presente invención proporcionan moléculas antisentido seleccionadas y/o adaptadas para ayudar en el tratamiento profiláctico o terapéutico de un trastorno genético que comprende por lo menos una molécula antisentido en una forma adecuada para la administración en el paciente.
- 15 Determinadas realizaciones de la invención proporcionan oligonucleótidos antisentido y composiciones farmacéuticas para la utilización en el tratamiento de un paciente que sufre de distrofia muscular, en el que existe una mutación en un gen codificante de una proteína particular y el efecto de la mutación puede anularse mediante omisión exónica. El tratamiento puede comprender las etapas de: (a) seleccionar una molécula antisentido de acuerdo con los métodos descritos en la presente memoria, y (b) administrar la molécula en un paciente que necesita de dicho tratamiento. En la presente memoria los presentes inventores describen el uso de oligonucleótidos de la invención, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad genética.
- 20 Determinadas realizaciones proporcionan oligonucleótidos antisentido y composiciones farmacéuticas para la utilización en el tratamiento de la distrofia muscular, tal como una condición caracterizada como distrofia muscular de Duchenne. El tratamiento puede comprender la administración en el paciente que necesita tratamiento de una cantidad eficaz de un oligonucleótido antisentido apropiadamente diseñado, tal como se describe en la presente memoria, relevante a la lesión genética particular en ese paciente. Los métodos para tratar profilácticamente un paciente para prevenir o por lo menos minimizar la distrofia muscular, incluyendo la distrofia muscular de Duchenne, pueden comprender la etapa de: administrar en el paciente una cantidad eficaz de un oligonucleótido antisentido o una composición farmacéutica que comprende una o más de dichas moléculas biológicas.
- 25 Determinadas realizaciones se refieren a oligonucleótidos antisentido y composiciones farmacéuticas para la utilización en el tratamiento de la distrofia muscular en un sujeto. El tratamiento puede comprender la administración en el sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto antisentido sustancialmente no cargado que contiene 20 a 35 subunidades morfolino unidas mediante enlaces intersubunidad que contienen fósforo que unen un nitrógeno de morfolino de una subunidad con un carbono exocíclico 5' de una subunidad contigua, que comprende una secuencia de bases de SEC ID nº 382 o una secuencia con una identidad de por lo menos 80% respecto a la misma y capaz de formar con la secuencia de ARNm complementaria en un exón de gen de distrofina una estructura heterodúplex entre dicho compuesto y el ARNm con una Tm de por lo menos 45°C, en el que el exón es el exón 52.
- 30 En determinadas realizaciones, la distrofia muscular es la distrofia muscular de Duchenne (DMD). En determinadas realizaciones, la distrofia muscular es la distrofia muscular de Becker (DMB)
- 35 En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 1 a 20, que inducen la omisión del exón 44. En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 21 a 76 y 612 a 624, que inducen la omisión del exón 45.
- 40 En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 77 a 125, que inducen la omisión del exón 46. En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 126 a 169, que inducen la omisión del exón 47.
- 45 En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 170 a 224 y 634, que inducen la omisión del exón 48. En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 225 a 266, que inducen la omisión del exón 49.
- 50 En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 267 a 308, que inducen la omisión del exón 50. En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 309 a 371, que inducen la omisión del exón 51.
- 55 En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 372 a 381 y 383 a 415, que inducen la omisión del exón 52. En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 416 a 475 y 625 a 633, que inducen la omisión del exón 53. En la presente memoria los presentes inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 476 a 519, que inducen la omisión del exón 54. En la presente memoria los presentes
- 60
- 65

inventores describen secuencias seleccionadas del grupo que consiste en las SEC ID nº 520 a 569 y 635, que inducen la omisión del exón 55.

5 También se describen en la presente memoria kits para el tratamiento de una enfermedad genética, kits que comprenden por lo menos un oligonucleótido de la presente invención, envasados en un recipiente adecuado e instrucciones para su utilización.

Estos y otros objetivos y características se entenderán más completamente tras la lectura de la descripción detallada siguiente junto con las figuras.

10

### Breve descripción de las figuras

La figura 1A muestra una estructura de oligómero morfolino ejemplar con un enlace fosforodiamidato.

15 La figura 1B muestra un conjugado de un péptido rico en argininas y un oligómero antisentido, de acuerdo con una realización de la invención.

La figura 1C muestra un conjugado tal como en la figura 1B, en el que los enlaces del esqueleto contienen uno o más grupos cargados positivamente.

Las figuras 1D-G muestran el segmento de subunidades repetidas de los oligonucleótidos morfolino ejemplares, denominados D a G.

20 La figura 2A muestra la localización relativa y resultados de un escaneo de exón 51 de un oligómero antisentido diseñado para inducir la omisión del exón 51 de la distrofina humana.

25 Las figuras 2B-C muestran la actividad relativa en células de rabdomiosarcoma (RD) humano en cultivo y células de músculo esquelético primarias humanas de los tres mejores oligómeros seleccionados del escaneo del exón 51 (SEC ID nº 324, 326 y 327) respecto a las secuencias (AVI-5658, SEC ID nº 588 y h51AON1, SEC ID nº 594) que resultan eficaces en la inducción de la omisión del exón 51. La figura 2D muestra la localización relativa dentro del exón 51 de tres oligómeros seleccionados en comparación con determinadas secuencias.

La figura 3A muestra la localización relativa y los resultados de un escaneo del exón 50 de oligómero antisentido diseñado para inducir la omisión del exón 50 de la distrofina humana en comparación con otras secuencias que inducen la omisión del exón 50.

30 La figura 3B muestra la localización y actividad relativas de las secuencias antisentido seleccionadas del escaneo del exón 50 (SEC ID nº 277, 287, 290 y 291) en comparación con otras secuencias (SEC ID nº 584 y 585).

La figura 4A muestra la localización relativa y resultados de un escaneo de exón 53 de un oligómero antisentido diseñado para inducir la omisión del exón 53 de la distrofina humana. La figura 4B muestra la localización relativa de determinadas secuencias utilizadas para comparar la actividad de omisión exónica de aquellos oligómeros seleccionados como más activos en el escaneo del exón 53.

35 Las figuras 4C-F muestran los resultados de los estudios de determinación de dosis, resumidos en la figura 4B, utilizando los oligómeros seleccionados como más eficaces en el escaneo del exón 53 (SEC ID nº 422, 428, 429 y 431).

40 Las figuras 4H y 4I muestran la actividad relativa de determinadas secuencias (SEC ID nº 608 a 611) en comparación con la actividad del oligómero de omisión del exón 53 más activo (SEC ID nº 429) tanto en células RD como en células de músculo esquelético primarias humanas.

La figura 5A muestra la localización relativa y resultados de un escaneo de exón 44 de un oligómero antisentido diseñado para inducir la omisión del exón 44 de la distrofina humana. La figura 5B muestra la localización relativa dentro del exón 44 de determinadas secuencias utilizadas para comparar la actividad de omisión exónica de aquellos oligómeros seleccionados como más activos en el escaneo del exón 44.

45 Las figuras 5C-G muestran los resultados de los estudios de determinación de dosis, resumidos en la figura 5H, utilizando los oligómeros seleccionados como más eficaces en el escaneo del exón 44 (SEC ID nº 4, 8, 11, 12 y 13).

50 Las figuras 5I y 5J muestran la actividad relativa de determinadas secuencias (SEC ID nº 600 a 603) en comparación con la actividad del oligómero de omisión del exón 53 más activo (SEC ID nº 12) tanto en células RD como en células de músculo esquelético primarias humanas.

La figura 6A muestra la localización relativa y resultados de un escaneo de exón 45 de un oligómero antisentido diseñado para inducir la omisión del exón 45 de la distrofina humana. La figura 6B muestra la localización relativa dentro del exón 45 de determinadas secuencias utilizadas para comparar la actividad de omisión exónica de aquellos oligómeros seleccionados como más activos en el escaneo del exón 45.

55 Las figuras 6C-F muestran los resultados de los estudios de determinación de dosis, resumidos en la figura 6H, utilizando los oligómeros seleccionados como más eficaces en el escaneo del exón 45 (SEC ID nº 27, 29, 34 y 39).

La figura 6G utiliza un oligómero relativamente inactivo (SEC ID nº 49) como control negativo.

60 Las figuras 6I y 6J muestran la actividad relativa de determinadas secuencias (SEC ID nº 604 a 607) en comparación con la actividad del oligómero de omisión del exón 53 más activo (SEC ID nº 34) tanto en células RD como en células de músculo esquelético primarias humanas.

### Descripción detallada de la invención

65 Las realizaciones de la presente invención se refieren de manera general a compuestos antisentido mejorados y a usos de los mismos, que están diseñados específicamente para inducir la omisión exónica en el gen de la distrofina.

La distrofina desempeña un papel vital en la función muscular y diversas enfermedades de tipo muscular se caracterizan por formas mutadas de este gen. Por lo tanto, en determinadas realizaciones, los compuestos antisentido mejorados descritos en la presente memoria inducen omisión exónica en formas mutadas del gen de la distrofina humana, tal como los genes de distrofina mutados que se encuentran en la distrofia muscular de Duchenne (DMD) y en la distrofia muscular de Becker (DMB).

Debido a sucesos de corte y empalme aberrantes del ARNm causados por mutaciones, estos genes mutados de la distrofina humana expresan una proteína distrofina defectiva o no expresan en absoluto distrofina medible, una condición que conduce a diversas formas de distrofia muscular. Para remediar esta condición, los compuestos antisentido de la presente invención típicamente se hibridan con regiones seleccionadas de un ARN preprocesado de un gen mutado de la distrofina humana, inducen la omisión exónica y el corte y empalme diferencial en ARNm de distrofina que de otro modo se cortaría y empalmaría aberrantemente, y de esta manera permiten que las células musculares produzcan un transcrito de ARNm que codifica una proteína distrofina funcional. En determinadas realizaciones, la proteína distrofina resultante no es necesariamente la forma de "tipo salvaje" de la distrofina sino que es una forma de la distrofina truncada, aunque funcional o semifuncional.

Mediante el incremento de los niveles de proteína distrofina funcional en las células musculares, éstas y realizaciones relacionadas pueden resultar útiles en la profilaxis y tratamiento de la distrofia muscular, especialmente aquellas formas de distrofia muscular, tales como la DMD y la DMB, que se caracterizan por la expresión de proteínas de distrofina defectuosas debido al corte y empalme aberrante del ARNm. Los oligómeros específicos indicados en la presente memoria proporcionan además un reconocimiento específico de exón de la distrofina mejorado y, de esta manera, ofrecen ventajas significativas y prácticas respecto a métodos alternativos de tratamiento de formas relevantes de distrofia muscular.

A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria presentan los mismos significados entendidos comúnmente por el experto ordinario en la materia a la que se refiere la invención. Aunque también pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria en la práctica o ensayo de la presente invención, se describen métodos y materiales preferentes. Para los fines de la presente invención se definen a continuación los términos siguientes.

#### Definiciones

Los artículos "un" y "una" se utilizan en la presente memoria para referirse a uno o a más de uno (es decir, a por lo menos uno) del objeto gramatical del artículo. A título de ejemplo, "un elemento" se refiere a un elemento o a más de un elemento.

El término "aproximadamente" se refiere a una cantidad, nivel, valor, número, frecuencia, porcentaje, dimensión, tamaño, cantidad, peso o longitud que varía en hasta 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1% respecto a una cantidad, nivel, valor, número, frecuencia, porcentaje, dimensión, tamaño, cantidad, anchura o longitud de referencia.

La expresión "secuencia codificante" se refiere a cualquier secuencia de ácidos nucleicos que contribuye al código del producto polipéptido de un gen. En contraste, la expresión "secuencia no codificante" se refiere a cualquier secuencia de ácido nucleico que no contribuye al código del producto polipéptido de un gen.

En la totalidad de la presente memoria, a menos que el contexto indique lo contrario, los términos "comprende" y "comprendiendo" se entenderá que implican la inclusión de una etapa, elemento o grupo de etapas o elementos indicados, pero no la exclusión de cualquier otra etapa, elemento o grupo de etapas o elementos.

La expresión "que consiste en" pretende incluir, y se encuentra limitada a, lo que siga a la expresión "que consiste en". De esta manera, la expresión "que consiste en" indica que los elementos listados resultan necesarios u obligatorios y que no puede encontrarse presente ningún otro elemento. La expresión "que consiste esencialmente en" pretende incluir cualesquiera elementos listados después de la expresión y limitada a otros elementos que no interfieren o contribuyen a la actividad o acción especificada en la exposición de los elementos listados. De esta manera, la expresión "que consiste esencialmente en" indica que los elementos listados resultan necesarios u obligatorios pero que otros elementos son opcionales y pueden encontrarse presentes o no dependiendo de si afectan o no a la actividad o acción de los elementos listados.

Los términos "complementario" y "complementariedad" se refieren a polinucleótidos (es decir, una secuencia de nucleótidos) relacionados por reglas de apareamiento de bases. Por ejemplo, la secuencia "A-G-T-" es complementaria a la secuencia "T-C-A". La complementariedad puede ser "parcial", en la que sólo algunas de las bases de ácidos nucleicos se aparean de acuerdo con las reglas de apareamiento de bases. O puede existir una complementariedad "completa" o "total" entre los ácidos nucleicos. El grado de complementariedad entre las cadenas de ácidos nucleicos presenta efectos significativos sobre la eficiencia y fuerza de hibridación entre cadenas de ácidos nucleicos. Aunque con frecuencia se desea la complementariedad perfecta, algunas realizaciones pueden incluir una o más, aunque preferentemente 6, 5, 4, 3, 2 o 1 no correspondencia con respecto al ARN diana. Se encuentran incluidas variaciones en cualquier localización dentro del oligómero. En determinadas realizaciones, las variaciones de secuencia próximas

a los extremos de un oligómero generalmente resultan preferibles a las variaciones en el interior, y si se encuentran presentes, típicamente se encuentran aproximadamente a 6, 5, 4, 3, 2 o 1 nucleótido del extremo 5' y/o 3'.

Las expresiones "péptido de penetración celular" o "PPC" se utilizan intercambiamente y se refieren a péptidos de penetración celular catiónicos, también denominados péptidos de transporte, péptidos portadores o dominios de transducción de péptidos. Los péptidos, tal como se muestra en la presente memoria, presentan la capacidad de inducir la penetración celular en 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% de las células de una población de cultivo celular dada, incluyendo todos los números enteros entre dichos porcentajes, y permiten la traslocación macromolecular dentro de múltiples tejidos in vivo con la administración sistémica.

Las expresiones "oligómero antisentido" o "compuesto antisentido" se utilizan intercambiamente y se refieren a una secuencia de subunidades cíclicas, cada una portadora de una fracción de apareamiento de bases, unida mediante enlaces intersubunidad que permiten que las fracciones de apareamiento de bases se hibriden con una secuencia diana en un ácido nucleico (típicamente un ARN) mediante apareamiento de bases de Watson-Crick, formando un heterodúplex de ácido nucleico:oligómero dentro de la secuencia diana. Las subunidades cíclicas se basan en ribosa o en otro azúcar pentosa o, en una realización preferente, en un grupo morfolino (ver la descripción de los oligómeros morfolino, posteriormente).

Dicho oligómero antisentido puede diseñarse para bloquear o inhibir la traducción del ARNm o para inhibir el procesamiento natural mediante corte y empalme del pre-ARNm y puede afirmarse que se encuentra "dirigido a" o "presenta como diana" una secuencia diana con la que se hibrida. La secuencia diana puede incluir una región que incluye un codón de inicio AUG de un ARNm, un sitio de corte y empalme 3' o 5' de un ARNm preprocesado, o un punto de ramificación. La secuencia diana puede encontrarse dentro de un exón o dentro de un intrón. La secuencia diana para un sitio de corte y empalme puede incluir una secuencia de ARNm con su extremo 5' situado 1 a aproximadamente 25 pares de bases cadena abajo de una unión normal aceptora de empalme en un ARNm preprocesado. Una secuencia diana preferente para un corte y empalme es cualquier región de un ARNm preprocesado que incluye un sitio de corte y empalme o que se encuentre contenida completamente dentro de una secuencia codificante de exón o que incluye un sitio aceptor o donante de corte y empalme. Un oligómero se afirma más generalmente que "está dirigido contra" una diana biológicamente relevante, tal como una proteína, virus o bacteria, en el caso que esté dirigido contra el ácido nucleico de la diana de la manera indicada anteriormente. Los oligómeros antisentido pueden comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, una o más SEC ID nº 1 a 569 y 612 a 635. Entre las variantes de estos oligómeros antisentido se incluyen oligómeros variantes con una identidad de secuencias u homología de secuencias de 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% o 99% (incluyendo todos los números enteros comprendidos entre estos porcentajes) respecto a cualquiera de las SEC ID nº 1 a 569 y nº 612 a 635, y/o variantes que difieren de dichas secuencias en aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos, preferentemente variantes que inducen la omisión exónica de uno o más exones de distrofina humana seleccionados. Los oligómeros en cualquiera de las SEC ID nº 584 a 611 y nº 634 a 635 pueden comprender un número adecuado de enlaces con carga, tal como se describen en la presente memoria, p.ej. hasta aproximadamente 1 por cada 2 a 5 enlaces sin carga, tal como aproximadamente 4-5 por cada 10 enlaces sin carga y/o que comprenden un péptido rico en Arg unido a ellos, tal como también se indica en la presente memoria.

La expresión "oligómero morfolino" o "PMO" (oligómero morfolino fosforamidato o fosforodiamidato) se refiere a un análogo de oligonucleótido compuesto de estructuras de subunidad morfolino en las que: (i) las estructuras están unidas entre sí mediante enlaces que contienen fósforo, de uno a tres átomos de longitud, preferentemente de dos átomos de longitud, y preferentemente sin carga o catiónicos, que unen el nitrógeno de morfolino de una subunidad con un carbono exocíclico 5' de una subunidad contigua, e (ii) cada anillo morfolino porta una fracción de apareamiento con base purina o pirimidina eficaz para unirse, mediante enlaces de hidrógeno específicos de base, a una base en un polinucleótido. Ver, p.ej., la estructura en la figura 1A, que muestra un tipo preferente de enlace fosforodiamidato. Pueden realizarse variaciones en este enlace con la condición de que no interfieran con la unión o actividad. Por ejemplo, el oxígeno unido al fósforo puede sustituirse por azufre (trifosforodiamidato). El oxígeno 5' puede sustituirse por amino o amina con sustitución de alquilo inferior. El nitrógeno colgante unido al fósforo puede estar no sustituido, monosustituido o disustituido con alquilo inferior (sustituido opcionalmente). Ver también la discusión sobre enlaces catiónicos, posteriormente. La síntesis, estructuras y características de unión de los oligómeros morfolino se detallan en las patentes US nº 5.698.685, 5.217.866, 5.142.047, 5.034.506, 5.166.315, 5.521.063, y 5.506.337, y solicitud de patente PCT nº PCT/US07/11435 (enlaces catiónicos).

La fracción de apareamiento de base purina o pirimidina típicamente es adenina, citosina, guanina, uracilo, timina o inosina. Se incluyen además bases tales como piridin-4-ona, piridin-2-ona, fenilo, pseudouracilo, 2,4,6-trimetoxi benceno, 3-metil-uracilo, dihidrouridina, naftilo, aminofenilo, 5-alquilcitolinas (p.ej., 5-metilcitolina), 5-alquiluridinas (p.ej., ribotimidina), 5-halouridina (p.ej., 5-bromouridina) o 6-azapirimidinas o 6-alquilpirimidinas (p.ej., 6-metiluridina), propino, quesosina, 2-tiouridina, 4-tiouridina, wibutosina, wibutoxosina, 4-acetiluridina, 5-(carboxihidroximetil)uridina, 5'-carboximetilaminometil-2-tiouridina, 5-carboximetilaminometiluridina,  $\beta$ -D-galactosilqueosina, 1-metiladenosina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanosina, 3-metilcitolina, 2-metiladenosina, 2-metilguanosina, N6-metiladenosina, 7-metilguanosina, 5-metoxiaminometil-2-tiouridina, 5-metilaminometiluridina, 5-metilcarboniletiluridina, 5-metiloxiuridina, 5-metil-2-tiouridina, 2-metil-6-N-isopenteniladenosina,  $\beta$ -D-manosilqueosina, ácido uridin-5-oxiacético, 2-tiocitolina, derivados de treonina y otros (Burgin et al., 1996, Biochemistry, 35, 14090; Uhlman y Peyman, supra). La expresión

“bases modificadas” en dicho aspecto se refiere a bases nucleótidas diferentes de adenina (A), guanina (G), citosina (C), timina (T) y uracilo (U), tal como se ha ilustrado anteriormente; tales bases pueden utilizarse en cualquier posición en la molécula antisentido. El experto en la materia apreciará que, dependiendo de los usos de los oligómeros, las T y U son intercambiables. Por ejemplo, con otras reacciones químicas antisentido, tales como los oligonucleótidos antisentido 2'-O-metilo que son de tipo ARN, las bases T pueden mostrarse como U (ver, p.ej., la lista de ID de secuencia).

Una “subunidad aminoácido” o “residuo aminoácido” puede referirse a un residuo  $\alpha$ -aminoácido (p.ej., -CO-CHR-NH-) o un residuo  $\beta$ -aminoácido u otro residuo aminoácido (p.ej., -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CHR-NH-), donde R es una cadena lateral (que puede incluir hidrógeno) y n es 1 a 6, preferentemente 1 a 4.

La expresión “aminoácido natural” se refiere a un aminoácido presente en proteínas presentes en la naturaleza, tales como los 20 (L)-aminoácidos utilizados durante la biosíntesis de proteínas, así como otros, tales como 4-hidroxiprolina, hidroxilisina, desmosina, isodesmosina, homocisteína, citrulina y ornitina. La expresión “aminoácidos no naturales” se refiere a aquellos aminoácidos no presentes en proteínas presentes en la naturaleza, entre los ejemplos de los cuales se incluyen beta-alanina ( $\beta$ -Ala; o B), ácido 6-aminohexanoico (Ahx) y ácido 6-aminopentanoico. Entre los ejemplos adicionales de “aminoácidos no naturales” se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, (D)-aminoácidos, norleucina, norvalina, p-fluorofenilalanina, etionina y similares, que son conocidos por el experto en la materia.

Una “cantidad eficaz” o “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad de compuesto terapéutico, tal como un oligómero antisentido, administrado en un sujeto mamífero, como dosis individual o como parte de una serie de dosis, que resulta eficaz para producir una respuesta fisiológica o efecto terapéutico en el sujeto. Un ejemplo de una respuesta fisiológica deseada incluye la expresión incrementada de una forma relativamente funcional o biológicamente activa de la proteína distrofina, principalmente en tejidos o celulares musculares que contienen una proteína distrofina defectuosa o no contienen distrofina, en comparación con oligómero antisentido o un oligómero de control. Entre los ejemplos de efectos terapéuticos deseados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, mejoras de los síntomas o patología de la distrofia muscular, reduciendo la progresión de los síntomas o la patología de la distrofia muscular, y el retraso de la aparición de los síntomas o la patología de la distrofia muscular, entre otros. Entre los ejemplos de tales síntomas se incluyen fatiga, retardo mental, debilidad muscular, dificultad con las habilidades motoras (p.ej., correr, brincar, saltar), caídas frecuentes y dificultades en la deambulaci3n. La patología de la distrofia muscular puede caracterizarse, por ejemplo, por daños en las fibras musculares y fugas membranales. Para un oligómero antisentido, este efecto típicamente se produce mediante la alteraci3n del procesamiento por corte y empalme de una secuencia diana seleccionada (p.ej., distrofina), tal como para inducir la omisi3n ex3nica.

Un “ex3n” se refiere a una secci3n definida de ácido nucleico que codifica para una proteína, o una secuencia de ácido nucleico que está representada en la forma madura de una molécula de ARN después de que partes de un ARN preprocesado (o precursor) hayan sido eliminadas mediante corte y empalme. La molécula de ARN maduro puede ser un ARN mensajero (ARNm) o una forma funcional de un ARN no codificante, tal como ARNr o ARNt. El gen de distrofina humano presenta aproximadamente 75 exones.

Un “intr3n” se refiere a una regi3n de ácido nucleico (dentro de un gen) que no resulta traducida en una proteína. Un intr3n es una secci3n no codificante que se transcribe en un ARNm precursor (pre-ARNm) y posteriormente se elimina mediante corte y empalme durante la formaci3n del ARN maduro.

La expresi3n “omisi3n ex3nica” se refiere de manera general al procedimiento por el que un ex3n entero, o una parte del mismo, se elimina de un ARN preprocesado dado y de esta manera se excluye su presencia en el ARN maduro, tal como el ARNm maduro, que se traduce en una proteína. Por lo tanto, la parte de la proteína que de otro modo está codificada en el ex3n omitido no se encuentra presente en la forma expresada de la proteína, creando típicamente una forma alterada, aunque todavía funcional, de la proteína. En determinadas realizaciones, el ex3n que se omite es un ex3n aberrante del gen de la distrofina humana, que puede contener una mutaci3n u otra alteraci3n en su secuencia que de otro modo provoca un corte y empalme aberrante. El ex3n que se omite es el ex3n 52 del gen de distrofina, aunque el ex3n 52 del gen de la distrofina humana resulta preferente.

La “distrofina” es una proteína citoplasmática en forma de barra, y una parte vital del complejo de proteína que conecta el citoesqueleto de una fibra muscular con la matriz extracelular circundante a través de la membrana celular. La distrofina contiene múltiples dominios funcionales. Por ejemplo, la distrofina contiene un dominio de uni3n a actina en aproximadamente los aminoácidos 14 a 240 y un dominio de barra central en aproximadamente los aminoácidos 253 a 3.040. Este dominio central grande está formado de 24 elementos de triple hélice de tipo espectrina de aproximadamente 109 aminoácidos, que presentan homología respecto a la alfa-actinina y la espectrina. Las repeticiones están típicamente interrumpidas por cuatro segmentos no repetidos ricos en prolina, también denominados regiones bisagra. Las repeticiones 15 y 16 están separadas por un tramo de 18 aminoácidos que aparentemente proporciona un sitio importante para el corte proteolítico de la distrofina. La identidad de secuencias entre la mayoría de repeticiones es de 10% a 25%. Una repetic3n contiene tres hélices alfa: 1, 2 y 3. Las hélices alfa 1 y 3 están formadas, cada una, por 7 giros helicoidales, probablemente interactuantes como hélice superenrollada mediante una interfaz hidrofóbica. La hélice alfa 2 presenta una estructura más compleja y está formada por segmentos de cuatro y tres giros helicoidales, separados por un residuo de glicina o prolina. Cada repetic3n está codificada por

dos exones, típicamente interrumpidos por un intrón entre los aminoácidos 47 y 48 en la primera parte de la hélice alfa 2. El otro intrón se encuentra en posiciones diferentes en la repetición, habitualmente disperso por la hélice 3. La distrofina contiene además un dominio rico en cisteínas en aproximadamente los aminoácidos 3.080 a 3.360, incluyendo un segmento rico en cisteínas (es decir, 15 cisteínas en 280 aminoácidos), que muestran homología respecto al dominio C-terminal de la alfa-actinina del mohó mucilaginoso (*Dictyostelium discoideum*). El dominio carboxi-terminal se encuentra en aproximadamente los aminoácidos 3.361 a 3.685.

El extremo amino-terminal de la distrofina se une a la F-actina y el extremo carboxi-terminal se une al complejo de proteína asociada a distrofina (DAPC, por sus siglas en inglés) en el sarcolema. El DAPC incluye distroglicanos, sarcoglicanos, integrinas y caveolina, y las mutaciones en cualquiera de estos componentes provoca distrofias musculares heredadas autosómicamente. El DAPC es desestabilizado en caso de que se encuentre ausente la distrofina, resultando en niveles reducidos de las proteínas miembro y, a su vez, conduce a un daño progresivo en las fibras y fuga membranal. En diversas formas de distrofia muscular, tales como la distrofia muscular de Duchenne (DMD) y la distrofia muscular de Becker (DMB), las células musculares producen una forma alterada y funcionalmente defectuosa de la distrofina o nada de distrofina en absoluto, principalmente debido a mutaciones en la secuencia génica que conducen a un corte y empalme incorrectos. La expresión predominante de la proteína distrofina defectuosa o la falta completa de distrofina o de una proteína de tipo distrofina, conduce a una rápida progresión de la degeneración macular, tal como se ha indicado anteriormente. A este respecto, una proteína distrofina "defectuosa" puede caracterizarse por las formas de distrofina que se producen en determinados sujetos con DMD o DMB, tal como es conocido en la técnica, o por la ausencia de distrofina detectable.

La Tabla A proporciona una ilustración de los diversos dominios de distrofina, los residuos aminoácidos que comprenden dichos dominios, y los exones que los codifican.

Tabla A:

dominio	subdominio	nº de residuo	Exones
dominio de unión a actina		14 a 240	2 a 8
dominio de barra central		253 a 3.040	8 a 61
	bisagra 1	253 a 327	(8)-9
	repetición 1	337 a 447	10 a 11
	repetición 2	448 a 556	12 a 14
	repetición 3	557 a 667	14 a 16
	bisagra 2	668 a 717	17
	repetición 4	718 a 828	(17)-20
	repetición 5	829 a 934	20 a 21
	repetición 6	935 a 1.045	22 a 23
	repetición 7	1.046 a 1.154	(23)-(26)
	repetición 8	1.155 a 1.263	26 a 27
	repetición 9	1.264 a 1.367	28-(30)
	repetición 10	1.368 a 1.463	30 a 32
	repetición 11	1.464 a 1.568	32-(34)
	repetición 12	1.569 a 1.676	34 a 35
	repetición 13	1.677 a 1.778	36 a 37
	repetición 14	1.779 a 1.874	38-(40)
	repetición 15	1.875 a 1.973	40 a 41
	interrupción	1.974 a 1.991	42
	repetición 16	1.992 a 2.101	42 a 43
	repetición 17	2.102 a 2.208	44 a 45
	repetición 18	2.209 a 2.318	46 a 48
	repetición 19	2.319 a 2.423	48 a 50
	bisagra 3	2.424 a 2.470	50 a 51
	repetición 20	2.471 a 2.577	51 a 53
	repetición 21	2.578 a 2.686	53-(55)
	repetición 22	2.687 a 2.802	55-(57)
	repetición 23	2.803 a 2.931	57 a 59
	repetición 24	2.932 a 3.040	59-(61)
	bisagra 4	3.041 a 3.112	61 a 64
dominio rico en cisteínas		3.080 a 3.360	63 a 69
	sitio de unión a distroglicano	3.080 a 3.408	63 a 70
	dominio WW	3.056 a 3.092	62 a 63
	EF-hand 1	3.130 a 3.157	65
	EF-hand 2	3.178 a 3.206	65 a 66

	dominio ZZ	3.307 a 3.354	68 a 69
dominio carboxi-terminal		3.361 a 3.685	70 a 79
	sitio de unión a alfa1-sintrofina	3.444 a 3.494	73 a 74
	sitio de unión a $\beta$ 1-sintrofina	3.495 a 3.535	74 a 75
	repetición (Leu)6-héptada	3.558 a 3.593	75

Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos “función” y “funcional” y similares se refieren a una función biológica, enzimática o terapéutica.

5 Una proteína distrofina “funcional” se refiere de manera general a una proteína distrofina con suficiente actividad biológica para reducir la degradación progresiva del tejido muscular que, de otro modo, es característica de la distrofia muscular, típicamente en comparación con la forma alterada o “defectuosa” de proteína distrofina que se encuentra presente en determinados sujetos con DMD o DMB. En determinadas realizaciones, una proteína distrofina puede presentar aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% (incluyendo todos los números enteros entre los porcentajes) de la actividad biológica in vitro o in vivo de la distrofina de tipo salvaje, medida según técnicas rutinarias de la técnica. A título de ejemplo, la actividad relacionada con la distrofina en cultivos musculares in vitro puede medirse según el tamaño de miotubos, la organización (o desorganización) de miofibrillas, la actividad contráctil, y aglomeración espontánea de receptores de acetilcolina (ver, p.ej., Brown et al., Journal of Cell Science, 112:209-216, 1999). Los modelos animales también son recursos valiosos para estudiar la patogénesis de la enfermedad y proporcionar un medio para someter a ensayo la actividad relacionada con la distrofina. Dos de los modelos animales más ampliamente utilizados para la investigación de la DMD son el ratón mdx y la distrofia muscular en el perro Golden Retriever (GRMD, por sus siglas en inglés), ambos son negativos para la distrofina (ver, p.ej., Collins y Morgan, Int. J. Exp. Pathol. 84: 165-172 (2003)). Estos modelos animales y otros pueden utilizarse para medir la actividad funcional de diversas proteínas distrofina. Se incluyen formas truncadas de la distrofina, tales como aquellas formas que son producidas por algunos determinados de los compuestos antisentido de omisión exónica de la presente invención.

El término “gen” se refiere a una unidad de la herencia que ocupa un locus específico en un cromosoma y que consiste en secuencias reguladoras de la transcripción y/o traducción y/o una región codificante y/o secuencias no traducidas (es decir, intrones, secuencias no traducidas 5' y 3').

El término “aislado” se refiere a material que se encuentra sustancialmente o esencialmente libre de componentes que normalmente lo acompañan en su estado nativo. Por ejemplo, un “polinucleótido aislado”, tal como se utiliza en la presente memoria, puede referirse a un polinucleótido que ha sido purificado o eliminado de las secuencias que lo flanquean en un estado natural, p.ej., un fragmento de ADN que ha sido eliminado de las secuencias que normalmente son contiguas al fragmento.

El término “potenciar”, “potenciación”, “incremento” o “en incremento”, “estimular” o “estimulante” se refiere de manera general a la capacidad de uno o más compuestos o composiciones antisentido de producir o provocar una mayor respuesta fisiológica (es decir, efectos cadena abajo) en una célula o en un sujeto, en comparación con la respuesta causada por ningún compuesto antisentido o por un compuesto de control. Una respuesta fisiológica medible puede incluir la expresión incrementada de una forma funcional de una proteína distrofina, o una actividad biológica relacionada con distrofina incrementada en el tejido muscular, entre otras respuestas evidentes a partir de la comprensión de la técnica y las descripciones en la presente memoria. La función muscular incrementada también puede medirse, incluyendo incrementos o mejoras de la función muscular de aproximadamente 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100%. El porcentaje de fibras musculares que expresa una distrofina funcional también puede medirse, incluyendo una expresión de distrofina incrementada en aproximadamente 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% de las fibras musculares. Por ejemplo, se ha demostrado que aproximadamente 40% de la mejora de la función muscular puede producirse si 25% a 30% de las fibras expresan distrofina (ver, p.ej., DelloRusso et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 12.979-12.984, 2002). Una cantidad “incrementada” o “potenciada” típicamente es una cantidad “estadísticamente significativa” y puede incluir un incremento que es 1,1 1,2, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más veces (p.ej., 500 o 1.000 veces) (incluyendo todos los números enteros y puntos decimales entre ellos y superiores a 1), p.ej., 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, etc.) la cantidad producida por ningún compuesto antisentido (la ausencia de un agente) o por un compuesto de control.

El término “reducir” o “inhibir” puede referirse de manera general a la capacidad de uno o más compuestos antisentido de la invención de “reducir” una respuesta fisiológica o celular relevante, tal como un síntoma de una enfermedad o condición descrita en la presente memoria, medida según técnicas rutinarias en la técnica diagnóstica. Las respuestas fisiológicas o celulares relevantes (in vivo o in vitro) resultarán evidentes para el experto en la materia y pueden incluir

reducciones de los síntomas o patología de la distrofia muscular, o reducciones de la expresión de formas defectuosas de la distrofina, tales como las formas alteradas de la distrofina que se expresan en los individuos con DMD o DMB. Una "reducción" en una respuesta puede ser estadísticamente significativa en comparación con la respuesta producida por la falta de compuesto antisentido o por una composición de control, y puede incluir una reducción de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100%, incluyendo todos los números enteros entre estos porcentajes.

El término "homología" se refiere al porcentaje del número de aminoácidos que son idénticos o que constituyen sustituciones conservadoras. La homología puede determinarse utilizando programas de comparación de secuencias, tales como GAP (Deveraux et al., *Nucleic Acids Research* 12:387-395, 1984). De esta manera, las secuencias de una longitud similar o sustancialmente diferente a las citadas en la presente memoria pueden compararse mediante la inserción de huecos en la alineación, determinando dichos huecos, por ejemplo, mediante el algoritmo de comparación utilizado por GAP.

La utilización de la expresión "identidad de secuencias" o, por ejemplo, que comprende una "secuencia 50% idéntica a", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a la medida en que las secuencias son idénticas nucleótido a nucleótido o aminoácido a aminoácido a lo largo de una ventana de comparación. De esta manera, se calcula un "porcentaje de identidad de secuencias" mediante la comparación de dos secuencias óptimamente alineadas dentro de la ventana de comparación, determinando el número de posiciones en las que se observa la base ácido nucleico idéntica (por ejemplo, A, T, C, G o I) o el residuo aminoácido idéntico (por ejemplo, Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Lys, Arg, His, Asp, Glu, Asn, Gln, Cys y Met) en ambas secuencias, rindiendo el número de posiciones correspondientes, dividiendo el número de posiciones correspondientes por el número total de posiciones en la ventana de comparación (es decir, el tamaño de la ventana) y multiplicando el resultado por 100 para proporcionar el porcentaje de identidad de secuencias.

Entre las expresiones utilizadas para describir las relaciones entre secuencias entre dos o más polinucleótidos o polipéptidos se incluyen "secuencia de referencia", "ventana de comparación", "identidad de secuencias", "porcentaje de identidad de secuencias" e "identidad sustancial". Una "secuencia de referencia" presenta por lo menos 8 o 10, aunque frecuentemente 15 a 18, y con frecuencia por lo menos 25 unidades de monómero, incluyendo nucleótidos y residuos aminoácidos, de longitud. Debido a que dos polinucleótidos pueden comprender, cada uno, (1) una secuencia (es decir, sólo una parte de la secuencia polinucleótida completa) que es similar entre los dos polinucleótidos, y (2) una secuencia que es divergente entre los dos polinucleótidos, las comparaciones entre secuencias de dos (o más) polinucleótidos típicamente se llevan a cabo comparando las secuencias de los dos polinucleótidos a lo largo de una "ventana de comparación" con el fin de identificar y comparar regiones locales de similitud de secuencias. Una "ventana de comparación" se refiere a un segmento conceptual de por lo menos 6 posiciones contiguas, habitualmente de aproximadamente 50 a aproximadamente 100, más habitualmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 150, en la que se compara una secuencia con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas después de la alineación óptima de las dos secuencias. La ventana de comparación puede comprender adiciones o deleciones (es decir, huecos) de aproximadamente 20% o menos en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o deleciones) para la alineación óptima de las dos secuencias. La alineación óptima de secuencias para la alineación de una ventana de comparación puede llevarse a cabo mediante implementaciones computerizadas de algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete de software de Wisconsin Genetics, versión 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Drive Madison, WI, EE.UU.) o mediante inspección y alineación óptima (es decir, que resulte en el porcentaje de homología más alto dentro de la ventana de comparación) generada mediante cualquiera de los diversos métodos seleccionados. También puede hacerse referencia a la familia BLAST de programas, tal como se da a conocer, por ejemplo, en Altschul et al., *Nucl. Acids Res.* 25:3389, 1997). Puede encontrarse un comentario detallado del análisis de secuencias en la unidad 19.3 de Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, 1994-1998, capítulo 15.

El "tratamiento" o "tratar" un individuo (p.ej., un mamífero, tal como un ser humano) o una célula puede incluir cualquier tipo de intervención utilizada en un intento para alterar el curso natural del individuo o célula. El tratamiento incluye, aunque sin limitación, la administración de una composición farmacéutica y puede llevarse a cabo profilácticamente o después del inicio de un suceso patológico o el contacto con un agente etiológico. El tratamiento incluye cualquier efecto deseable sobre los síntomas o la patología de una enfermedad o condición asociada a la proteína distrofina, tal como en determinadas formas de distrofia muscular, y puede incluir, por ejemplo, cambios o mejoras mínimos en uno o más marcadores medibles de la enfermedad o condición bajo tratamiento. Se incluyen además tratamientos "profilácticos", que pueden dirigirse a reducir la velocidad de progresión de la enfermedad o condición bajo tratamiento, a retrasar la aparición de la enfermedad o condición, o a reducir la gravedad de su aparición. El "tratamiento" o "profilaxis" no indica necesariamente la erradicación completa, cura o prevención de la enfermedad o condición, o síntomas asociados a la misma.

Por lo tanto, se incluyen oligonucleótidos antisentido para la utilización en el tratamiento de la distrofia muscular, tal como la DMD y la DMB. Puede administrarse en un sujeto que lo necesita, uno o más oligómeros antisentido de la presente invención, opcionalmente como parte de una formulación farmacéutica o forma de administración. Los presentes inventores describen en la presente memoria métodos de inducción de omisión exónica en un sujeto

- mediante la administración de uno o más oligómeros antisentido, en la que el exón es uno de los exones 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54 y/o 55 del gen de la distrofina, preferentemente el gen de la distrofina humana. Un "sujeto", tal como se utiliza en la presente memoria, incluye cualquier animal que muestra un síntoma, o se encuentra en riesgo de mostrar un síntoma, que puede tratarse con un compuesto antisentido de la invención, tal como un sujeto que
- 5 presenta o está en riesgo de presentar DMD o DMB, o cualquiera de los síntomas asociados a estas condiciones (p.ej., pérdida de fibras musculares). Entre los sujetos (pacientes) adecuados se incluyen animales de laboratorio (tales como el ratón, la rata, el conejo o el cobaya), animales de granja y animales domésticos o de compañía (tales como un gato o perro). Se encuentran incluidos los primates no humanos y, preferentemente, los pacientes humanos.
- 10 Los presentes inventores describen en la presente memoria sistemas vectores de administración que son capaces de expresar las secuencias oligoméricas con diana en la distrofina descritas en la presente memoria, tales como vectores que expresan una secuencia polinucleótida que comprende una o más cualesquiera de las SEC ID n° 1 a 569 y 612 a 635, o variantes de las mismas, tal como se indica en la presente memoria. El término "vector" o "constructo de ácido nucleico" se refiere a una molécula polinucleótida, preferentemente una molécula de ADN derivada, por ejemplo, de
- 15 un plásmido, bacteriófago, levadura o virus, en la que puede insertarse o clonarse un polinucleótido. Un vector preferentemente contiene uno o más sitios de restricción únicos y puede ser capaz de replicación autónoma en una célula huésped definida, incluyendo una célula o tejido diana o una célula o tejido progenitor del mismo, o ser integrable en el genoma del huésped definido de manera que la secuencia clonada sea reproducible. De acuerdo con lo anterior, el vector puede ser un vector de replicación autónoma, es decir, un vector que existe en forma de una entidad extracromosómica, la replicación del cual es independiente de la replicación cromosómica, por ejemplo un plásmido circular lineal o cerrado, un elemento extracromosómico, un minicromosoma o un cromosoma artificial. El vector puede contener cualesquiera medios para garantizar la autorreplicación. Alternativamente, el vector puede ser uno que, al ser introducido en la célula huésped, se integra en el genoma y se replica junto con el cromosoma o cromosomas en los que se ha integrado.
- 20 Un sistema vector o constructo de ácido nucleico puede comprender un único vector o plásmido, dos o más vectores o plásmidos, que juntos contienen el ADN total que debe introducirse en el genoma de la célula huésped, o un transposón. La elección del vector típicamente dependerá de la compatibilidad del vector con la célula huésped en la que debe introducirse el vector. En el presente caso, el vector o constructo de ácido nucleico preferentemente es uno que es operablemente funcional en una célula de mamífero, tal como una célula muscular. El vector puede incluir, además, un marcador de selección, tal como un gen de resistencia a antibiótico o fármaco, o un gen informador (es decir, proteína fluorescente verde, luciferasa) que puede utilizarse para la selección o identificación de transformantes o transfectantes adecuados. Entre los sistemas de administración ejemplares pueden incluirse sistemas de vector vírico (es decir, transducción mediada víricamente), incluyendo, aunque sin limitación, vectores retrovíricos (p.ej.,
- 25 lentivíricos), vectores adenovíricos, vectores víricos adenoasociados y vectores víricos herpes, entre otros conocidos en la técnica.
- La expresión "operablemente ligado" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a introducir una secuencia codificante de oligómero bajo el control regulador de un promotor, que entonces controla la transcripción del oligómero.
- 30 Un gen o producto génico de tipo salvaje es aquel que se observa más frecuentemente en una población y se denomina arbitrariamente, de esta manera, forma "normal" o "de tipo salvaje" del gen.
- "Alquilo" o "alquilenio" se refieren ambos a un radical hidrocarburo de cadena lineal o ramificada saturada que contiene
- 35 1 a 18 carbonos. Entre los ejemplos se incluyen, aunque sin limitación, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo y n-hexilo. La expresión "alquilo inferior" se refiere a un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria, que contiene entre 1 y 8 carbonos.
- El término "alquenilo" se refiere a un radical hidrocarburo de cadena lineal o ramificada insaturado que contiene 2 a
- 40 18 carbonos y que comprende por lo menos un doble enlace carbono a carbono. Entre los ejemplos se incluye, aunque sin limitación, etenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, isobutenilo, terc-butenilo, n-pentenilo y n-hexenilo. La expresión "alquenilo inferior" se refiere a un grupo alquenilo, tal como se define en la presente memoria, que contiene entre 2 y 8 carbonos.
- El término "alquinilo" se refiere a un radical hidrocarburo de cadena lineal o ramificada insaturado que contiene 2 a
- 45 18 carbonos que comprende por lo menos un triple enlace carbono a carbono. Entre los ejemplos se incluyen, aunque sin limitación, etinilo, propinilo, isopropinilo, butinilo, isobutinilo, terc-butinilo, pentinilo y hexinilo. La expresión "alquinilo inferior" se refiere a un grupo alquinilo, tal como se define en la presente memoria, que contiene entre 2 y 8 carbonos.
- El término "cicloalquilo" se refiere a un radical alquilo monocíclico o policíclico. Entre los ejemplos se incluyen, aunque
- 50 sin limitación, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo.
- El término "arilo" se refiere a una fracción de hidrocarburo aromático cíclico que contiene 5 a 18 carbonos con uno o
- 55 más anillos cerrados. Entre los ejemplos se incluyen, aunque sin limitación, fenilo, bencilo, naftilo, antraceno, fenantraceno y bifenilo.

El término "aralquilo" se refiere a un radical de fórmula RaRb en la que Ra es una cadena alquilo tal como se ha definido anteriormente y Rb es uno o más radicales arilo tal como se ha definido anteriormente, por ejemplo bencilo, difenilmetilo y similares.

5 El término "tioalcoxi" se refiere a un radical de fórmula -SRc, en la que Rc es un radical alquilo tal como se define en la presente memoria. La expresión "tioalcoxi inferior" se refiere a un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria, que contiene entre 1 y 8 carbonos.

10 El término "alcoxi" se refiere a un radical de fórmula -ORd, en la que Rd es un radical alquilo tal como se define en la presente memoria. La expresión "alcoxi inferior" se refiere a un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria, que contiene entre 1 y 8 carbonos. Entre los ejemplos de grupos alcoxi se incluyen, aunque sin limitación, metoxi y etoxi.

15 El término "alcoxialquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo alcoxi.

El término "carbonilo" se refiere al radical -C(=O)-.

20 El término "guanidinilo" se refiere al radical H<sub>2</sub>N(C=NH<sub>2</sub>)-NH-.

El término "amidinilo" se refiere al radical H<sub>2</sub>N(C=NH<sub>2</sub>)CH-.

El término "amino" se refiere al radical -NH<sub>2</sub>.

25 El término "alquilamino" se refiere a un radical de fórmula -NHRd o -NRdRd, en la que cada Rd es, independientemente, un radical alquilo tal como se define en la presente memoria. La expresión "alquilamino inferior" se refiere a un grupo alquilamino, tal como se define en la presente memoria, que contiene entre 1 y 8 carbonos.

30 El término "heterociclo" se refiere a un anillo monocíclico de 5 a 7 elementos, o bicíclico heterocíclico de 7 a 10 elementos, que es saturado, insaturado o aromático y que contiene 1 a 4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, y en el que los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden oxidarse opcionalmente, y el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado, incluyendo anillos bicíclicos en los que cualquiera de los heterociclos anteriormente indicados se fusiona con un anillo de benceno. El heterociclo puede unirse mediante cualquier heteroátomo o átomo de carbono. Entre los heterociclos se incluyen heteroarilos tal como se define posteriormente. De esta manera, además de los heteroarilos listados posteriormente, entre los heterociclos se incluyen además morfolinilo, pirrolidinonilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperizinilo, hidantoinilo, valerolactamilo, oxiranilo, oxetanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, tetrahidropiridinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopiranilo, tetrahidropirimidinilo, tetrahidrotiopiranilo y similares.

40 El término "heteroarilo" se refiere a un anillo heterociclo aromático de 5 a 10 elementos y que presenta por lo menos un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre y que contiene por lo menos 1 átomo de carbono, incluyendo tanto sistemas de anillos monocíclicos como bicíclicos. Son heteroarilos representativos, piridilo, furilo, benzofuranilo, tiofenilo, benzotiofenilo, quinolinilo, pirrolilo, indolilo, oxazolilo, benzoxazolilo, imidazolilo, bencimidazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, cinolinilo, ftalazinilo y quinazolinilo.

Las expresiones "alquilo sustituido opcionalmente", "alquenilo sustituido opcionalmente", "alcoxi sustituido opcionalmente", "tioalcoxi sustituido opcionalmente", "alquilamino sustituido opcionalmente", "alquilo inferior sustituido opcionalmente", "alquenilo inferior sustituido opcionalmente", "alcoxi inferior sustituido opcionalmente", "tioalcoxi inferior sustituido opcionalmente", "alquilamino inferior sustituido opcionalmente" y "heterociclilo sustituido opcionalmente" se refieren a que, al sustituirlos, por lo menos un átomo de hidrógeno se sustituye con un sustituyente. En el caso de un sustituyente oxo (=O), se sustituyen dos átomos de hidrógeno. A este respecto, entre los sustituyentes se incluyen deuterio, alquilo sustituido opcionalmente, alquenilo sustituido opcionalmente, alquinilo sustituido opcionalmente, arilo sustituido opcionalmente, heterociclo sustituido opcionalmente, cicloalquilo sustituido opcionalmente, oxo, halógeno, -CN, -ORx, NRxRy, NRxC(=O)Ry, NRxSO<sub>2</sub>Ry, -NRxC(=O)NRxRy, C(=O)Rx, C(=O)ORx, C(=O)NRxRy, -SOMRx y -SOMNRxRy, en los que m es 0, 1 o 2, Rx y Ry son iguales o diferentes e independientemente hidrógeno, alquilo sustituido opcionalmente, alquenilo sustituido opcionalmente, alquinilo sustituido opcionalmente, arilo sustituido opcionalmente, heterociclo sustituido opcionalmente o cicloalquilo sustituido opcionalmente y cada uno de dichos sustituyentes alquilo sustituido opcionalmente, alquenilo sustituido opcionalmente, alquinilo sustituido opcionalmente, arilo sustituido opcionalmente, heterociclo sustituido opcionalmente y cicloalquilo sustituido opcionalmente puede sustituirse adicionalmente con uno o más de oxo, halógeno, -CN, -ORx, NRxRy, NRxC(=O)Ry, NRxSO<sub>2</sub>Ry, -NRxC(=O)NRxRy, C(=O)Rx, C(=O)ORx, C(=O)NRxRy, -SOMRx y -SOMNRxRy.

65 Construcción de oligonucleótidos antisentido

Se ilustran ejemplos de oligonucleótidos morfolino con enlaces esqueléticos que contienen fósforo en las figs. 1A-1C.

Resulta especialmente preferente un oligonucleótido morfolino unido mediante fosforodiamidato tal como se muestra en la fig. 1C, que está modificado, de acuerdo con un aspecto de la presente invención, para que contenga grupos cargados positivamente en preferentemente 10% a 50% de sus enlaces del esqueleto. Los oligonucleótidos morfolino con enlaces de esqueleto no cargados y su preparación, incluyendo los oligonucleótidos antisentido, se detallan en, por ejemplo, Summerton y Weller 1997, y en las patentes US copropietarias n° 5.698.685, n° 5.217.866, n° 5.142.047, n° 5.034.506, n° 5.166.315, n° 5.185.444, n° 5.521.063 y n° 5.506.337.

Entre las propiedades importantes de las subunidades a base de morfolino se incluyen: 1) la capacidad de estar unidas en una forma oligomérica mediante enlaces de esqueleto no cargados o cargados positivamente, 2) la capacidad de soportar una base nucleótida (p.ej., adenina, citosina, guanina, timidina, uracilo e inosina), de manera que el polímero formado puede hibridarse con un ácido nucleico diana de bases complementarias, incluyendo ARN diana, con valores de T<sub>m</sub> superiores a aproximadamente 45°C en oligonucleótidos relativamente cortos (p.ej., 10 a 15 bases), 3) la capacidad del oligonucleótido de ser transportado activa o pasivamente al interior de células de mamífero, y 4) la capacidad del heterodúplex de oligonucleótido antisentido:ARN de resistir a ARNasa y a la degradación por ARNasa H, respectivamente.

Entre las estructuras de esqueleto ejemplares para los oligonucleótidos antisentido de la materia objeto reivindicada se incluyen los tipos de subunidad morfolino mostrados en las figs. 1D-G, cada una unida mediante un enlace de subunidad que contiene fósforo no cargado o cargado positivamente. La fig. 1D muestra un enlace que contiene fósforo que forma el esqueleto de unidad repetitiva de cinco átomos, en el que los anillos morfolino están unidos mediante un enlace fosfoamida de 1 átomo. La fig. 1E muestra un enlace que produce un esqueleto de unidades repetitivas de 6 átomos. En esta estructura, el átomo Y que une el carbono 5'-morfolino con el grupo de fósforo puede ser de azufre, nitrógeno, carbono o, preferentemente, oxígeno. La fracción X colgante del fósforo puede ser de flúor, un alquilo o alquilo sustituido, un alcoxi o alcoxi sustituido, un tioalcoxi o tioalcoxi sustituido, o nitrógeno no sustituido, monosustituido o disustituido, incluyendo estructuras cíclicas, tales como morfolinos o piperidinas. Los alquilo, alcoxi y tioalcoxi preferentemente incluyen 1 a 6 átomos de carbono. Las fracciones Z son de azufre u oxígeno, y preferentemente de oxígeno.

Los enlaces mostrados en las figs. 1F y 1G están diseñados para esqueletos de longitud unitaria de 7 átomos. En la estructura 1F, la fracción X es tal como en la estructura 1E, y la fracción Y puede ser de metileno, azufre o, preferentemente, oxígeno. En la estructura 1G, las fracciones X e Y son tal como en la estructura 1E. Entre los oligonucleótidos morfolino particularmente preferentes se incluyen los compuestos de estructuras de subunidades de morfolino de la forma mostrada en la fig. 1E, en la que X=NH<sub>2</sub>, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 1-piperazinilo sustituido opcionalmente u otro grupo cargado, Y=O y Z=O.

Tal como se ha indicado anteriormente, el oligonucleótido no cargado o sustancialmente no cargado puede modificarse, de acuerdo con un aspecto de la invención, para incluir enlaces cargados, p.ej., hasta aproximadamente 1 por cada 2 a 5 enlaces no cargados, tal como aproximadamente 4 o 5 por cada 10 enlaces no cargados. Puede observarse una mejora óptima de la actividad antisentido en el caso de que aproximadamente 25% de los enlaces del esqueleto sean catiónicos, incluyendo aproximadamente 20% a aproximadamente 30%. También se encuentran incluidos oligómeros en los que aproximadamente 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% (incluyendo todos los números enteros entre estos porcentajes) o más de los enlaces de esqueleto son catiónicos. También se observa una potenciación con un número pequeño, p.ej. 5% o 10% a 20%, de los enlaces catiónicos.

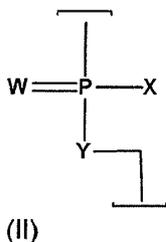
Un esqueleto que contiene fósforo sustancialmente no cargado en un análogo de oligonucleótido típicamente es uno en el que la mayoría de los enlaces de subunidad, p.ej., 50% a 100%, típicamente por lo menos 60% a 100%, o 75% o 80% de sus enlaces, están no cargados a pH fisiológico y contienen un único átomo de fósforo.

Algunos experimentos adicionales llevados a cabo en apoyo de la presente invención indican que la potenciación observada con cargas de esqueleto catiónicas añadidas puede, en algunos casos, potenciarse adicionalmente mediante la distribución de la mayor parte de las cargas en una zona próxima a la "región central" de los enlaces de esqueleto del oligonucleótido antisentido, p.ej., en un oligonucleótido 20-mero con 8 enlaces de esqueleto catiónico, con por lo menos 70% de estos enlaces cargados localizados en los 10 enlaces más centrales.

Los compuestos antisentido pueden prepararse mediante síntesis en fase sólida escalonada, utilizando métodos detallados en las referencias citadas anteriormente, y posteriormente con respecto a la síntesis de oligonucleótidos que presentan una mezcla de enlaces de esqueleto no cargados y catiónicos. En algunos casos, puede resultar deseable añadir fracciones químicas adicionales al compuesto antisentido, p.ej., para potenciar la farmacocinética o para facilitar la captura o detección del compuesto. Tal fracción puede unirse covalentemente, típicamente a un extremo del oligómero, según métodos sintéticos estándares. Por ejemplo, la adición de una fracción polietilenglicol u otro polímero hidrofílico, p.ej., uno con 10 a 100 subunidades monoméricas, puede resultar útil en potenciar la solubilidad. Uno o más grupos cargados, p.ej., grupos cargados aniónicos, tales como un ácido orgánico, pueden potenciar la incorporación celular. Una fracción informadora, tal como fluoresceína o un grupo marcado radioactivamente, puede unirse con fines de detección. Alternativamente, la etiqueta informadora unida al oligómero puede ser un ligando, tal como un antígeno o biotina, capaz de unirse a un anticuerpo marcado o estreptavidina. En la selección de una fracción para la unión o modificación de un compuesto antisentido, generalmente resulta deseable

evidentemente seleccionar compuestos químicos de grupos que son biocompatibles y probablemente tolerados por un sujeto sin efectos secundarios no deseables.

5 Tal como se ha indicado anteriormente, el compuesto antisentido puede construirse para contener un número seleccionado de enlaces catiónicos intercalados con enlaces no cargados del tipo indicado anteriormente. Los enlaces intersubunidad, tanto no cargados como catiónicos, preferentemente son enlaces que contienen fósforo, con la estructura (II):



10 en la que:

W es -S- o -O-, y preferentemente es -O-,

X = -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> o -OR<sup>6</sup>,

15 Y = -O- o -NR<sup>7</sup>, y

cada uno de dichos enlaces en el oligómero se selecciona de:

(a) un enlace no cargado (a), en el que cada uno de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>6</sup> y R<sup>7</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo inferior,

20 (b1) un enlace catiónico (b1), en el que X = -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> e Y = -O-, y -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> representan una fracción piperazínico sustituida opcionalmente, de manera que R<sup>1</sup>R<sup>2</sup> = -CHRCHR<sup>n</sup>(R<sup>3</sup>)(R<sup>4</sup>)CHRCHR-, en el que:

cada R es independientemente H o -CH<sub>3</sub>,

R<sup>4</sup> es H, -CH<sub>3</sub>, o un par de electrones, y

25 R<sup>3</sup> se selecciona de H, alquilo inferior sustituido opcionalmente, -C(=NH)NH<sub>2</sub>, -Z-L-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, y [-C(=O)CHR<sup>n</sup>NH]<sub>m</sub>H, en el que: Z es -C(=O)- o un enlace directo, L es un conector opcional de hasta 18 átomos de longitud, preferentemente de hasta 12 átomos, y más preferentemente de hasta 8 átomos de longitud, con enlaces seleccionados de alquilo sustituido opcionalmente, alcoxi sustituido opcionalmente y alquilamino sustituido opcionalmente, R' es una cadena lateral de un aminoácido natural o un homólogo de uno o dos carbonos del mismo, y m es 1 a 6, preferentemente 1 a 4,

30 (b2) un enlace catiónico (b2), en el que X = -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> e Y = -O-, R<sup>1</sup> = H o -CH<sub>3</sub>, y R<sup>2</sup> = LNR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, en el que L, R<sup>3</sup>, y R<sup>4</sup> son tal como se ha definido anteriormente, y R<sup>5</sup> es H, alquilo inferior sustituido opcionalmente o alquilo(alcoxi) inferior sustituido opcionalmente, y

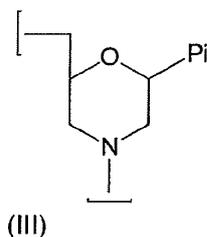
35 (b3) un enlace catiónico (b3), en el que Y = -NR<sup>7</sup> y X = -OR<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> = -LNR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, en el que L, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son tal como se ha definido anteriormente, y R<sup>6</sup> es H o alquilo inferior sustituido opcionalmente, y por lo menos uno de dichos enlaces se selecciona de los enlaces catiónicos (b1), (b2) y (b3).

40 Preferentemente, el oligómero incluye por lo menos dos enlaces consecutivos de tipo (a) (es decir, enlaces no cargados). En realizaciones adicionales, por lo menos 5% de los enlaces en el oligómero son enlaces catiónicos (es decir, de tipo (b1), (b2) o (b3)), por ejemplo 10% a 60%, y preferentemente 20% a 50% de los enlaces pueden ser enlaces catiónicos.

45 En una realización, por lo menos un enlace es de tipo (b1), en el que, preferentemente, cada R es H, R<sup>4</sup> es H, -CH<sub>3</sub>, o un par de electrones, y R<sup>3</sup> se selecciona de H, alquilo inferior sustituido opcionalmente, -C(=NH)NH<sub>2</sub>, y -C(=O)-L-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>. Las dos últimas realizaciones de R<sup>3</sup> proporcionan una fracción guanidino, directamente unida al anillo piperazina o colgante de un grupo conector L, respectivamente. Para facilitar la síntesis, la variable Z en R<sup>3</sup> preferentemente es -C(=O)-, tal como se muestra.

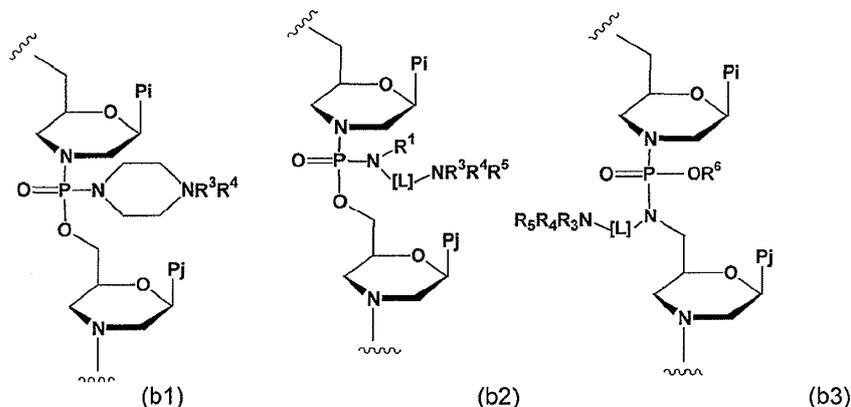
50 El grupo conector L, tal como se ha indicado anteriormente, contiene enlaces en su esqueleto seleccionados de alquilo sustituido opcionalmente, alcoxi sustituido opcionalmente y alquilamino sustituido opcionalmente, en el que los átomos terminales en L (p.ej., los contiguos a carbonilo o nitrógeno) son átomos de carbono. Aunque resultan posibles los enlaces ramificados, el conector preferentemente es no ramificado. En una realización, el conector es un conector alquilo lineal. Dicho conector puede presentar la estructura -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, en la que n es 1 a 12, preferentemente 2 a 8, y más preferentemente 2 a 6.

Las subunidades morfolino presentan la estructura (III) a continuación:



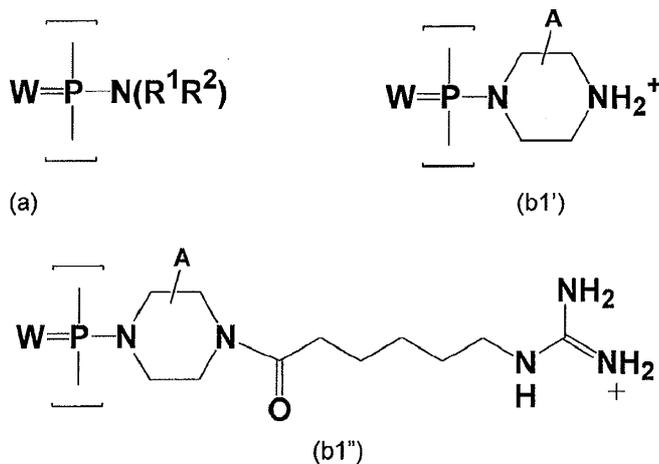
5 en la que Pi es una fracción de apareamiento de bases y los enlaces ilustrados anteriormente conectan el átomo de nitrógeno de (III) con el carbono 5' de una subunidad contigua. Las fracciones de apareamiento de bases Pi pueden ser iguales o diferentes y se diseñan generalmente para proporcionar una secuencia que se une a un ácido nucleico diana.

10 La utilización de realizaciones de los tipos de enlace (b1), (b2) y (b3), anteriormente, para unir las subunidades morfolino (III) pueden ilustrarse gráficamente de la manera siguiente:



15 Preferentemente, todos los enlaces catiónicos en el oligómero son del mismo tipo; es decir, todos del tipo (b1), todos del tipo (b2) o todos del tipo (b3).

20 En realizaciones adicionales, los enlaces catiónicos se seleccionan de los enlaces (b1') y (b1'') tal como se muestra posteriormente, en donde (b1') se denomina en la presente memoria enlace "Pip" y (b1'') se denomina en la presente memoria enlace "GuX":



25 En las estructuras anteriores, W es S o O, y es preferentemente O; cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo inferior sustituido opcionalmente, y es preferentemente metilo, y A representa hidrógeno o un sustituyente no interfiriendo (es decir, un sustituyente que no afecta adversamente a la capacidad de un oligómero de unirse a su diana pretendida) en uno o más átomos de carbono en (b1') y (b1''). Preferentemente, los carbonos anulares en el anillo piperazina están no sustituidos; sin embargo, los carbonos anulares del anillo piperazina pueden incluir sustituyentes no interfiriendo, tales como metilo o flúor. Preferentemente, como máximo uno o dos átomos de carbono se sustituyen de esta manera.

30

En realizaciones adicionales, por lo menos 10% de los enlaces son de tipo (b1') o (b1''); por ejemplo 10% a 60% y preferentemente 20% a 50% de los enlaces pueden ser de tipo (b1') o (b1'').

- 5 En otras realizaciones, el oligómero no contiene enlaces del tipo (b1') anterior. Alternativamente, el oligómero no contiene enlaces de tipo (b1), en el que cada R es H, R<sup>3</sup> es H o -CH<sub>3</sub>, y R<sup>4</sup> es H, -CH<sub>3</sub> o un par de electrones.

10 Las subunidades morfolino también pueden unirse mediante enlaces intersubunidad no basados en fósforo, tal como se indica adicionalmente después, donde por lo menos un enlace se modifica con un grupo catiónico colgante, tal como se ha indicado anteriormente.

15 Podrían utilizarse otros enlaces de análogo de oligonucleótido que se encuentran no cargados en su estado no modificado pero que también podrían portar un sustituyente amina colgante. Por ejemplo, podría utilizarse un átomo de nitrógeno 5' en un anillo morfolino en un enlace sulfamida o en un enlace de urea (en el que el fósforo se sustituye por carbono o azufre, respectivamente) y modificarse de una manera análoga al átomo de nitrógeno 5' en la estructura (b3), anteriormente.

20 Se proporcionan oligómeros que presentan cualquier número de enlaces catiónicos, incluyendo oligómeros totalmente unidos por enlaces catiónicos. Preferentemente, sin embargo, los oligómeros están parcialmente cargados, presentando, por ejemplo, 10% a 80%. En realizaciones preferentes, aproximadamente 10% a 60%, y preferentemente 20% a 50% de los enlaces son catiónicos.

25 En una realización, los enlaces catiónicos están entremezclados a lo largo del esqueleto. Los oligómeros parcialmente cargados preferentemente contienen por lo menos dos enlaces no cargados consecutivos; es decir, el oligómero preferentemente no presenta un patrón estrictamente alternante a lo largo de toda su longitud.

30 También se consideran los oligómeros que presentan bloques de enlaces catiónicos y bloques de enlaces no cargados; por ejemplo, un bloque central de enlaces no cargados puede estar flanqueado por bloques de enlaces catiónicos, o viceversa. En una realización, el oligómero presenta aproximadamente una longitud equivalente 5', 3' y en regiones centrales, y el porcentaje de enlaces catiónicos en la región central es superior a aproximadamente 50%, preferentemente superior a aproximadamente 70%.

35 Los oligómeros para la utilización en aplicaciones antisentido generalmente presentan una longitud comprendida entre aproximadamente 10 y aproximadamente 40 subunidades, más preferentemente de aproximadamente 10 a 30 subunidades y típicamente de 15 a 25 bases, incluyendo los que presentan 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 o 40 bases. En determinadas realizaciones, un oligómero de la invención que presenta 20 subunidades, una longitud útil para un compuesto antisentido, idealmente puede presentar dos a diez, p.ej., cuatro a ocho enlaces catiónicos, y el resto ser enlaces no cargados. Un oligómero con 14 o 15 subunidades idealmente puede presentar dos a siete, p.ej., 3 a 5, enlaces catiónicos, siendo el resto enlaces no cargados.

45 Cada estructura de anillo morfolino presenta apoyo a una fracción de apareamiento de bases, formando una secuencia de fracciones de apareamiento de bases que está diseñada típicamente para hibridarse con una diana antisentido seleccionada en una célula o en sujeto bajo tratamiento. La fracción de apareamiento de bases puede ser una purina o pirimidina presente en ADN o ARN nativo (p.ej., A, G, C, T o U) o un análogo, tal como hipoxantina (el componente de bases del nucleósido inosina) o 5-metil-citosina.

#### Transportadores de péptidos

50 Los compuestos antisentido de la invención pueden incluir una fracción oligonucleótido conjugada con una fracción de transporte de péptidos ricos en arginina eficaz para potenciar el transporte del compuesto hacia el interior de las células. La fracción de transporte preferentemente se une a un extremo terminal del oligómero, tal como se muestra, por ejemplo, en las figuras 1B y 1C. La fracción de transporte peptídico preferentemente comprende 6 a 16 subunidades seleccionadas de subunidades X', subunidades Y' y subunidades Z', en la que:

55 (a) cada subunidad X' representa independientemente lisina, arginina o un análogo de arginina, siendo dicho análogo un  $\alpha$ -aminoácido catiónico que comprende una cadena lateral de estructura  $R^1N=C(NH_2)R^2$ , en la que R<sup>1</sup> es H o R; R<sup>2</sup> es R, -NH<sub>2</sub>, -NHR, o -NR<sub>2</sub>, en la que R es alquilo inferior sustituido opcionalmente o alqueno inferior sustituido opcionalmente; R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden unirse entre sí para formar un anillo, y la cadena lateral se une a dicho aminoácido mediante R<sup>1</sup> o R<sup>2</sup>;

60 (b) cada subunidad Y' representa independientemente un aminoácido neutro -C(=O)-(CHR)<sub>n</sub>-NH-, donde n es 2 a 7 y cada R es independientemente H o metilo, y

(c) cada subunidad Z' representa independientemente un  $\alpha$ -aminoácido que presenta una cadena lateral aralquilo neutra,

65

en la que el péptido comprende una secuencia representada por lo menos uno de  $(X'Y'X')_p$ ,  $(X'Y')_m$ , y/o  $(X'Z'Z')_p$ , donde p es 2 a 5 y m es 2 a 8. Determinadas realizaciones incluyen diversas combinaciones seleccionadas independientemente de  $(X'Y'X')_p$ ,  $(X'Y')_m$  y/o  $(X'Z'Z')_p$ , incluyendo, por ejemplo, péptidos que presentan la secuencia  $(X'Y'X')(X'Z'Z')(X'Y'X')(X'Z'Z')$  (SEC ID n° 637).

En realizaciones seleccionadas, para cada X', la fracción de cadena lateral es guanidinilo, tal como en la subunidad aminoácido arginina (Arg). En determinadas realizaciones, cada Y' es independientemente  $-C(=O)-(CH_2)_n-CHR-NH-$ , donde n es 2 a 7 y R es H. Por ejemplo, en el caso de que n sea 5 y R sea H, Y' es una subunidad ácido 6-aminoheanoico, abreviadamente en la presente memoria Ahx; en el caso de que n sea 2 y R sea H, Y' es una subunidad β-alanina, abreviada en la presente memoria B. Determinadas realizaciones se refieren a péptidos portadores que presentan una combinación de diferentes aminoácidos neutros, incluyendo, por ejemplo, péptidos que comprenden la secuencia  $-RahxRRBRRAhxRRBRAhxB-$  (SEC ID n° 578), que contiene tanto β-alanina como ácido 6-aminoheanoico.

Entre los péptidos preferentes de este tipo se incluyen los que comprenden dímeros de arginina alternantes con subunidades Y' individuales, en las que Y' preferentemente es Ahx o B, o ambos. Entre los ejemplos se incluyen péptidos que presentan la fórmula  $(RY'R)_p$  y/o la fórmula  $(RRY')_p$ , en la que p es 1 a 2 a 5 y en la que Y' es preferentemente Ahx. En una realización, Y' es una subunidad ácido 6-aminoheanoico, R es arginina y p es 4. Determinadas realizaciones incluyen diversas combinaciones lineales de por lo menos dos de  $(RY'R)_p$  y  $(RRY')_p$ , incluyendo, por ejemplo, péptidos ilustrativos que presentan la secuencia  $(RY'R)(RRY')(RY'R)(RRY')$  (SEC ID n° 638), o  $(RRY')(RY'R)(RRY')$  (SEC ID n° 639). Se encuentran contempladas otras combinaciones. En una realización ilustrativa adicional, cada Z' es fenilalanina, y m es 3 o 4.

El péptido conjugado preferentemente se une a un extremo del oligómero mediante un conector Ahx-B, en el que Ahx es una subunidad ácido 6-aminoheanoico y B es una subunidad β-alanina, tal como se muestra, por ejemplo, en las figs. 1B y 1C.

En realizaciones seleccionadas, para cada X', la fracción de cadena lateral se selecciona independientemente del grupo que consiste en guanidinilo ( $HN=C(NH_2)NH-$ ), amidinilo ( $HN=C(NH_2)CH-$ ), 2-aminodihidropirimidilo, 2-aminotetrahidropirimidilo, 2-aminopiridinilo y 2-aminopirimidonilo y se selecciona preferentemente de guanidilo y amidinilo. En una realización, la fracción cadena lateral es guanidinilo, tal como en la subunidad aminoácido arginina (Arg).

En determinadas realizaciones, las subunidades Y' pueden ser contiguas, ya que no hay subunidades X' intermedias entre las subunidades Y' o entremezcladas individualmente entre subunidades X'. En determinadas realizaciones, la subunidad de enlace puede encontrarse entre subunidades Y'. En una realización, las subunidades Y' se encuentran en un extremo del transportador; en otras realizaciones, se encuentran flanqueadas por subunidades X'. En realizaciones preferentes adicionales, cada Y' es  $-C(=O)-(CH_2)_n-CHR-NH-$ , donde n es 2 a 7 y R es H. Por ejemplo, en el caso de que n sea 5 y R sea H, Y' es una subunidad ácido 6-aminoheanoico, abreviada en la presente memoria Ahx. En realizaciones seleccionadas de este grupo, cada X' comprende una fracción de cadena lateral guanidilo, tal como en una subunidad arginina. Entre los péptidos preferentes de este tipo se incluyen los que comprenden dímeros de arginina alternantes con subunidades Y' individuales, en las que Y' preferentemente es Ahx. Entre los ejemplos se incluyen péptidos que presentan la fórmula  $(RY'R)_4$  o la fórmula  $(RRY')_4$ , en la que Y' es preferentemente Ahx. En el último caso, el análogo de ácido nucleico preferentemente se une a una subunidad Y' terminal, preferentemente en el extremo C-terminal, tal como se muestra, por ejemplo, en las figs. 1B y 1C. El conector preferente es de la estructura AhxB, en la que Ahx es una subunidad ácido 6-aminoheanoico y B es una subunidad β-alanina.

Las fracciones de transportador indicadas anteriormente se ha demostrado que potencian en gran medida la entrada en la célula de oligómeros unidos, respecto a la incorporación del oligómero en ausencia de la fracción de transporte unida y respecto a la incorporación por una fracción de transporte unida que no presenta las subunidades hidrofóbicas Y'. Dicha incorporación potencia preferentemente se pone de manifiesto por un incremento de como mínimo dos veces y preferentemente por un incremento de cuatro veces en la incorporación del compuesto en las células de mamífero respecto a la incorporación del agente por una fracción de transporte unida que no presenta las subunidades hidrofóbicas Y'. La incorporación preferentemente resulta potenciada por lo menos veinte veces y más preferentemente cuarenta veces, respecto al compuesto no conjugado.

Un beneficio adicional de la fracción de transporte es su capacidad esperada de estabilizar un dúplex entre un compuesto antisentido y su secuencia de ácido nucleico diana, presumiblemente en virtud de la interacción electrostática entre la fracción de transporte cargada positivamente y el ácido nucleico cargado negativamente. El número de unidades cargadas en el transportador es inferior a 14, tal como se ha indicado anteriormente, y preferentemente de entre 8 y 11, ya que un número excesivamente elevado de subunidades cargadas puede conducir a una reducción de la especificidad de secuencia.

La utilización de transportadores peptídicos ricos en arginina (es decir, péptidos de penetración celular) resulta particularmente útil en la práctica de la presente invención. Se ha demostrado que determinados transportadores de péptidos resultan altamente eficaces en la administración de compuestos antisentido en células primarias, incluyendo



excipiente, adyuvante de fabricación (p.ej., lubricante, talco de magnesio, estearato de calcio o cinc, o ácido esteárico), o material encapsulante de solvente, implicado en llevar o transportar el compuesto de la invención de un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano, o parte del cuerpo. Cada portador debe resultar "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente.

Entre algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables se incluyen, aunque sin limitarse a ellos: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa, (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata, (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa, (4) tragacanto en polvo, (5) malta, (6) gelatina, (7) talco, (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorio, (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja, (10) glicoles, tales como propilenglicol, (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol, (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo, (13) agar, (14) agentes tamponadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio, (15) ácido alginico, (16) agua libre de pirógenos, (17) solución salina isotónica, (18) solución de Ringer, (19) alcohol etílico, (20) soluciones de pH tamponado, (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhidridos, y (22) otras sustancias compatibles no tóxicas utilizadas en formulaciones farmacéuticas.

Entre los ejemplos no limitativos adicionales de agentes adecuados para la formulación con los oligómeros antisentido de la presente invención se incluyen: Ácidos nucleicos conjugados con PEG, ácidos nucleicos conjugados con fosfolípidos, ácidos nucleicos que contienen fracciones lipofílicas, fosforotioatos, inhibidores de glucoproteína P (tales como Pluronic P85) que pueden potenciar la entrada de fármacos en diversos tejidos; polímeros biodegradables, tales como microesferas de poli(DL-láctido-coglicólido) para la administración de liberación sostenida después de la implantación (Emerich D.F. et al., Cell Transplant 8:47-58, 1999; Alkermes, Inc., Cambridge, Mass., y nanopartículas cargadas, tales como las realizadas en polibutilcianocrilato, que pueden administrar fármacos a través de la barrera hematoencefálica y pueden alterar los mecanismos de incorporación neuronal (Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 23:941-949, 1999).

La invención proporciona además la utilización de la composición que comprende liposomas de superficie modificada que contienen lípidos poli(etilenglicol) (modificados con PEG, ramificados y no ramificados o combinaciones de los mismos, o liposomas de circulación prolongada o liposomas encubiertos). Los oligómeros de la invención pueden comprender además moléculas de PEG unidas covalentemente de diversos pesos moleculares. Estas formulaciones ofrecen un método para incrementar la acumulación de fármacos en los tejidos diana. Esta clase de portadores farmacológicos resiste la opsonización y la eliminación por el sistema fagocítico mononuclear (MPS o RES, por sus siglas en inglés), permitiendo de esta manera tiempos de circulación en sangre más prolongados y una exposición potenciada de los tejidos al fármaco encapsulado (Lasic et al., Chem. Rev. 1995, 95, 2601-2627; Ishiwata et al., Chem. Pharm. Bull. 43:1005-1011, 1995). Tales liposomas se ha demostrado que se acumulan selectivamente en los tumores, presumiblemente mediante extravasación y captura en los tejidos diana neovascularizados (Lasic et al., Science 267:1275-1276, 1995; Oku et al., Biochim. Biophys. Acta, 1238, 86-90, 1995). Los liposomas de circulación prolongada potencian la farmacocinética y farmacodinámica del ADN y ARN, en particular en comparación con liposomas catiónicos convencionales que es conocido que se acumulan en tejidos del MPS (Liu et al., J. Biol. Chem. 42:24864-24870, 1995; Choi et al., publicación de patente internacional PCT nº WO 96/10391; Ansell et al., publicación de patente internacional PCT nº WO 96/10390; Holland et al., publicación de patente internacional PCT nº WO 96/10392). Los liposomas de circulación prolongada también es probable que protejan los fármacos frente a la degradación por nucleasas en mayor grado que los liposomas catiónicos, basándose en su capacidad de evitar la acumulación en tejidos MPS metabólicamente agresivos, tales como el hígado y el bazo.

En una realización adicional, la presente invención incluye composiciones de oligómeros preparadas para la administración tal como se describe en las patentes US nº 6.692.911, nº 7.163.695 y nº 7.070.807. A este respecto, en una realización, la presente invención proporciona un oligómero de la presente invención en una composición que comprende copolímeros de lisina e histidina (HK) tal como se indica en las patentes US nº 7.163.695, nº 7.070.807 y nº 6.692.911, solas o en combinación con PEG (p.ej., PEG ramificado o no ramificado, o una mezcla de ambos), en combinación con PEG y una fracción de transporte dirigido o cualquiera de los anteriores en combinación con un agente de entrecruzamiento. En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona oligómeros antisentido en composiciones que comprenden polihistidina modificada con ácido glucónico o polihistidina gluconilada/transferrina-polilisina. El experto en la materia reconocerá además que pueden sustituirse en la composición aminoácidos con propiedades similares a His y Lys.

Determinadas realizaciones de los oligómeros indicados en la presente memoria pueden contener un grupo funcional básico, tal como amino o alquilamino, y son capaces, de esta manera, de formar sales farmacéuticamente aceptables: con ácidos farmacéuticamente aceptables. A este respecto, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales de adición de ácido inorgánico y orgánico relativamente no tóxicas de compuestos de la presente invención. Estas sales pueden prepararse in situ en el vehículo de administración o en el procedimiento de fabricación de forma de dosificación, o haciendo reaccionar separadamente un compuesto purificado de la invención en su forma base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal formada de esta manera durante la purificación posterior. Entre las sales representativas se incluyen las sales hidrobromuro, hidrocloreuro, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato,

maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato y laurilsulfonato, y similares. (Ver, p.ej., Berge et al. "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19, 1977).

5 Entre las sales farmacéuticamente aceptables de los oligómeros de la invención se incluyen sales no tóxicas convencionales o sales de amonio cuaternario de los compuestos, p.ej., de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, entre tales sales no tóxicas convencionales se incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos, tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares, y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos, tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, palmítico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, 10 fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etanodisulfónico, oxálico, isotiónico y similares.

15 En determinadas realizaciones, los oligómeros de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, de esta manera, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a sales de adición de base inorgánica y orgánica relativamente no tóxicas de compuestos de la presente invención. Estas sales pueden prepararse in situ de manera similar en el vehículo de administración o procedimiento de fabricación de forma de dosificación, o haciendo reaccionar separadamente el compuesto purificado en su forma ácido libre con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, con amonio, o con una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Entre las sales 20 alcalinas o alcalino-térreas representativas se incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, y similares. Entre las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de base se incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares (ver, p.ej., Berge et al., *supra*).

25 También pueden encontrarse presentes en las composiciones, agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato sódico y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes desmoldantes, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

30 Entre los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables se incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, hidrocloreuro de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfato sódico, sulfito sódico y similares; (2) antioxidantes solubles en aceites, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares, y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilén-diamina-tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

35 Entre las formulaciones de la presente invención se incluyen las adecuadas para la administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal o sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosis unitaria y pueden prepararse mediante cualesquiera métodos bien conocidos de la técnica farmacéutica. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material portador para producir una forma de administración individual variará según el huésped bajo tratamiento, así como del modo de administración particular. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material portador para 40 producir una forma de administración individual generalmente será aquella cantidad de un compuesto que produce un efecto terapéutico. Generalmente, en porcentaje, esta cantidad se encontrará comprendida en el intervalo de entre aproximadamente 0,1 por ciento y aproximadamente noventa y nueve por ciento de ingrediente activo, preferentemente de entre aproximadamente 5 por ciento y aproximadamente 70 por ciento, más preferentemente de entre aproximadamente 10 por ciento y aproximadamente 30 por ciento.

45 En determinadas realizaciones, una formulación de la presente invención comprende un excipiente seleccionado de ciclodextrinas, celulosas, liposomas, agentes formadores de micela, p.ej., ácidos biliares y portadores poliméricos, p.ej., poliésteres y polianhídridos, y un oligómero de la presente invención. En determinadas realizaciones, una formulación anteriormente mencionada convierte en biodisponible por vía oral un oligómero de la presente invención.

50 Entre los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones se incluye la etapa de asociar un oligómero de la presente invención con el portador y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima un compuesto de la presente invención y portadores líquidos, o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, en caso necesario, conformando el producto.

55 Las formulaciones de la invención adecuadas para la administración oral pueden encontrarse en forma de cápsulas, sellos, píldoras, tabletas, pastillas (utilizando una base saborizada, habitualmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos o en forma de una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como elixir o jarabe, o en forma de pastillas (utilizando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o en forma de colutorio y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como ingrediente activo. Un oligómero de la presente invención también puede administrarse en forma de un bolo, electuario o pasta.

65 En formas de dosificación sólidas de la invención para la administración oral (cápsulas, tabletas, píldoras, grageas, polvos, gránulos, trociscos y similares), el ingrediente activo puede mezclarse con uno o más portadores

farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o extensores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) ligantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes desintegrantes, tales como agar agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato sódico; (5) agentes de retardo de la solución, tales como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario y surfactantes, tales como poloxámero y laurilsulfato sódico; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerol y surfactantes no iónicos; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico, estearato de cinc, estearato sódico, ácido esteárico y mezclas de los mismos; (10) agentes colorantes, y (11) agentes de liberación controlada, tales como crospovidona o etilcelulosa. En el caso de las cápsulas, tabletas y píldoras, las composiciones farmacéuticas pueden comprender además agentes tamponadores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden utilizarse como cargas en cápsulas rellenas de gelatina blanda y dura utilizando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Una tableta puede prepararse mediante prensado o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas pueden prepararse utilizando ligante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetil-celulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, desintegrante (por ejemplo, glicolato de almidón sódico o carboximetilcelulosa sódica entrecruzada), agente activo en superficie o dispersante. Pueden prepararse tabletas moldeadas mediante el moldeo en un aparato adecuado de una mezcla del compuesto en polvo humectado con un diluyente líquido inerte.

Las tabletas y otras formas de administración sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden ranurarse opcionalmente o prepararse con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo en el mismo utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices de polímero, liposomas y/o microesferas. Pueden formularse para la liberación rápida, p.ej., liofilizarse. Pueden esterilizarse mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención bacteriana o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de la utilización. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificadores y pueden ser de una composición con la que liberan el ingrediente o ingredientes activos sólo, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente de manera retardada. Entre los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden utilizarse se incluyen sustancias poliméricas y ceras. El agente activo también puede encontrarse en forma microencapsulada, en caso apropiado, con uno o más de los excipientes anteriormente indicados.

Entre las formas de administración líquidas para la administración oral de los compuestos de la invención se incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de administración líquidas pueden comprender diluyentes inertes utilizados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizadores y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (por ejemplo aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán y mezclas de los mismos.

Aparte de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilén-sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las formulaciones para la administración rectal o vaginal pueden presentarse en forma de supositorio, que pueden prepararse mediante la mezcla de uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes o portadores no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato y que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a la temperatura corporal y, por lo tanto, que se fundirá en el recto o cavidad vaginal y liberará el compuesto activo.

Entre las formulaciones o formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un oligómero de la presente invención se incluyen polvos, sprays, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. Los oligómeros activos pueden mezclarse bajo condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable y con cualesquiera conservantes, tampones o propelentes que puedan resultar necesarios. Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de la presente invención, excipientes, tales

como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

5 Los polvos y sprays pueden contener, además de un compuesto de la presente invención, excipientes, tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y poliamida en polvo, o mezclas de estas sustancias. Los sprays pueden contener adicionalmente propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano.

10 Los parches transdérmicos presentan la ventaja añadida de proporcionar una administración controlada de un oligómero de la presente invención en el cuerpo. Dichas formas de administración pueden prepararse mediante la disolución o dispersión del oligómero en el medio apropiado. Los intensificadores de absorción también pueden incrementarse para incrementar el flujo del agente a través de la piel. La velocidad de dicho flujo puede controlarse proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersión del agente en una matriz de polímero o gel, entre otros métodos conocidos en la técnica.

15 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración parenteral comprenden uno o más oligómeros de la invención en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles inmediatamente antes de la utilización, que pueden contener azúcares, alcoholes, antioxidantes, tampones, bacteriostatos, solutos que convierten la formulación en isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes de suspensión o espesantes. Entre los ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados que pueden utilizarse en las composiciones farmacéuticas de la invención se incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Puede mantenerse la fluidez correcta, por ejemplo mediante la utilización de materiales de recubrimiento tales como lecitina, mediante el mantenimiento de un tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y mediante la utilización de tensioactivos.

20 Dichas composiciones pueden contener además adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. El bloqueo de la acción de los microorganismos sobre los oligómeros de la invención puede garantizarse mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo parabeno, clorobutanol, ácido fenol-sórbico y similares. También puede resultar deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similares en las composiciones. Además, puede conseguirse la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

25 En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, resulta deseable enlentecer la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Ello puede conseguirse mediante la utilización de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con baja solubilidad en agua, entre otros métodos conocidos en la técnica. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su tasa de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se consigue mediante la disolución o suspensión del fármaco en un vehículo aceite.

30 Las formas de depósito inyectable se preparan mediante la formación de matrices de microcápsulas de los oligómeros de la invención en polímeros biodegradables, tales como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la proporción de oligómero a polímero y de la naturaleza del polímero particular utilizado, puede controlarse la tasa de liberación de oligómero. Entre los ejemplos de otros polímeros biodegradables se incluyen (poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones de depósito inyectable también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones, los cuales son compatibles con los tejidos corporales.

35 En el caso de que los oligómeros de la presente invención se administren como farmacéuticos en el ser humano y en animales, pueden administrarse de por sí o como composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, 0,1% a 99% (más preferentemente 10% a 30%) de ingrediente activo en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

40 Tal como se ha indicado anteriormente, las formulaciones o preparaciones de la presente invención pueden administrarse por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Típicamente se administran mediante formas adecuadas a cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en forma de tabletas o cápsulas, mediante inyección, inhalado, loción oftálmica, pomada, supositorio, etc., la administración mediante inyección, infusión o inhalación; por vía tópica mediante loción o pomada, y por vía rectal mediante supositorios.

45 Las expresiones "administración parenteral" y "administrado parenteralmente" tal como se utilizan en la presente memoria se refieren a modos de administración diferentes de la administración entérica y tópica, habitualmente mediante inyección, e incluyen, sin limitarse a las mismas, las inyecciones e infusiones intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal, y la infusión.

Las expresiones “administración sistémica”, “administrado sistémicamente”, “administración periférica” y “administrado periféricamente”, tal como se utilizan en la presente memoria, se refieren a la administración de un compuesto, fármaco u otro material no directamente en el sistema nervioso central, de manera que entra en el sistema del paciente y, de esta manera, se somete al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo la administración subcutánea.

Con independencia de la vía de administración seleccionada, los oligómeros de la presente invención, que pueden utilizarse en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales conocidos por el experto en la materia. Los niveles reales de las dosis de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden modificarse de manera que se obtenga una cantidad del ingrediente activo que resulte eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin resultar inaceptablemente tóxicos para el paciente.

El nivel de dosis seleccionado dependerá de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del oligómero particular de la presente invención utilizado, o el éster, sal o amida del mismo, la vía de administración, el momento de la administración, la tasa de excreción o metabolismo del oligómero particular utilizado, la tasa y grado de absorción, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con el oligómero particular utilizado, la edad, el sexo, el peso, la condición, el estado general de salud y la historia médica anterior del paciente bajo tratamiento, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Un médico o veterinario con conocimientos ordinarios en la materia podrá determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría iniciar las dosis de los compuestos de la invención utilizados en la composición farmacéutica a niveles más bajos que los requeridos con el fin de conseguir el efecto terapéutico deseado y gradualmente incrementar las dosis hasta conseguir el efecto deseado. En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será aquella cantidad del compuesto que sea la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. Dicha dosis eficaz generalmente dependerá de los factores indicados anteriormente. Generalmente, la dosis intravenosa, intracerebroventricular y subcutánea de los compuestos de la presente invención para un paciente, utilizadas para los efectos indicados, se encontrarán comprendidas entre aproximadamente 0,0001 y aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal al día.

Si se desea, la dosis diaria eficaz del compuesto activo puede administrarse como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas por separado a intervalos apropiados durante el día, opcionalmente en formas de administración unitarias. En determinadas situaciones, la dosificación es una administración al día. En determinadas realizaciones, la dosificación es una o más administraciones cada 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 días, o cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 semanas, o cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 meses, según se requiera, para mantener la expresión deseada de una proteína distrofia funcional.

Las moléculas de ácidos nucleicos pueden administrarse en las células mediante una diversidad de métodos conocidos por las personas familiarizadas con la técnica, incluyendo, aunque sin limitarse a ellas, el encapsulado en liposomas, mediante iontoforesis, o mediante incorporación en otros vehículos, tales como hidrogeles, ciclodextrinas, nanocápsulas biodegradables y microesferas bioadhesivas, tal como se indica en la presente memoria y es conocido en la técnica. En determinadas realizaciones, puede utilizarse la tecnología de microemulsificación para mejorar la biodisponibilidad de los agentes farmacéuticos lipofílicos (insolubles en agua). Entre los ejemplos se incluye la trimetrina (Dordunoo, S. K., et al., *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 17(12), 1685-1713, 1991 y REV 5901 (Sheen, P. C., et al., *J Pharm Sci* 80(7), 712-714, 1991). Entre otros beneficios, la microemulsificación proporciona una biodisponibilidad mejorada mediante la dirección preferente de la absorción al sistema linfático en lugar del sistema circulatorio, que de esta manera evita el hígado y evita la destrucción de los compuestos en la circulación hepatobiliar.

En un aspecto de la invención, las formulaciones contienen micelas formadas a partir de un oligómero tal como se proporciona en la presente memoria y por lo menos un portador anfifílico, en el que las micelas presentan un diámetro medio inferior a aproximadamente 100 nm. Realizaciones más preferentes proporcionan micelas con un diámetro medio inferior a aproximadamente 50 nm y realizaciones todavía más preferentes proporcionan micelas con un diámetro medio inferior a aproximadamente 30 nm o incluso inferior a aproximadamente 20 nm.

Aunque todos los portadores anfifílicos adecuados se encuentran contemplados, los portadores actualmente preferentes son generalmente los que presentan un estatus de generalmente-reconocidos-como-seguros (GRAS, por sus siglas en inglés) y que pueden tanto solubilizar el compuesto de la presente invención y microemulsionarlo en un estadio posterior al entrar en contacto la solución con una fase acuosa compleja (tal como la observada en el tracto gastrointestinal humano). Habitualmente, los ingredientes anfifílicos que satisfacen estos requisitos presentan valores de EHL (equilibrio hidrofílico-lipofílico) de 2 a 20 y sus estructuras contienen radicales alifáticos de cadena lineal en el intervalo de C-6 a C-20. Son ejemplos los glicéridos grasos polietilenglicolizados y polietilenglicoles.

Entre los ejemplos de portadores anfifílicos se incluyen glicéridos de ácido graso polietilenglicolizado saturado y monoinsaturado, tales como los obtenidos a partir de diversos aceites vegetales total o parcialmente hidrogenados.

Tales aceites pueden consistir ventajosamente en glicéridos de tri-, di- y mono-ácido graso y ésteres de di- y mono-polietilenglicol de los ácidos grasos correspondientes, incluyendo una composición de ácidos grasos particularmente preferente ácido cáprico 4-10%, ácido cáprico 3-9%, ácido láurico 40-50%, ácido mirístico 14-24%, ácido palmítico 4-14% y ácido esteárico 5-15%. Otra clase útil de portadores anfifílicos incluye sorbitán parcialmente esterificado y/o sorbitol, con ácidos grasos saturados o monoinsaturados (serie SPAN) o análogos etoxilados correspondientes (serie TWEEN).

Los portadores anfifílicos disponibles comercialmente pueden resultar particularmente útiles, incluyendo la serie Gelucire, labrafilo, labrasol o lauroglicol (todos fabricados y distribuidos por Gattefosse Corporation, Saint Priest, Francia), monooleato de PEG, dioleato de PEG, monolaurato y dilaurato de PEG, lecitina, polisorbato-80, etc. (producidos y distribuidos por varias compañías en EE.UU. y en todo el mundo).

En determinadas realizaciones, la administración puede realizarse mediante la utilización de liposomas, nanocápsulas, micropartículas, microesferas, partículas lipídicas, vesículas y similares, para la introducción de las composiciones de la presente invención en células huésped adecuadas. En particular, las composiciones de la presente invención pueden formularse para la administración encapsuladas en una partícula lipídica, un liposoma, una vesícula, una nanoesfera, una nanopartícula o similar. La formulación y utilización de tales vehículos de administración pueden llevarse a cabo utilizando técnicas conocidas y convencionales.

Los polímeros hidrofílicos adecuados para la utilización en la presente invención son aquellos que son fácilmente solubles en agua, pueden unirse covalentemente a un lípido formador de vesícula, y que resultan tolerados in vivo sin efectos tóxicos (es decir, son biocompatibles). Entre los polímeros adecuados se incluyen polietilenglicol (PEG), poliláctico (también denominado poliláctido), ácido poliglicólico (también denominado poliglicólido), un copolímero de ácido poliláctico-poliglicólico y alcohol polivinílico. En determinadas realizaciones, los polímeros presentan un peso molecular de entre aproximadamente 100 o 120 daltons, hasta aproximadamente 5.000 o 10.000 daltons, o de entre aproximadamente 300 daltons y aproximadamente 5.000 daltons. En otras realizaciones, el polímero es polietilenglicol con un peso molecular de entre aproximadamente 100 y aproximadamente 5.000 daltons, o con un peso molecular de entre aproximadamente 300 y aproximadamente 5.000 daltons. En determinadas realizaciones, el polímero es polietilenglicol de 750 daltons (PEG(750)). Los polímeros también pueden definirse por el número de monómeros en los mismos; una realización preferente de la presente invención utiliza polímeros de por lo menos aproximadamente tres monómeros, tales como los polímeros PEG que consisten en tres monómeros (aproximadamente 150 daltons).

Entre otros polímeros hidrofílicos que pueden resultar adecuados para la utilización en la presente invención se incluyen polivinilpirrolidona, polimetoxazolina, polietiloxazolina, polihidroxipropil metacrilamida, polimetacrilamida, polidimetilacrilamida y celulosas derivatizadas, tales como hidroximetilcelulosa o hidroxietilcelulosa.

En determinadas realizaciones, una formulación de la presente invención comprende un polímero biocompatible seleccionado del grupo que consiste en poliamidas, policarbonatos, polialquilenos, polímeros de ésteres acrílicos y metacrílicos, polímeros de polivinilo, poliglicólidos, polisiloxanos, poliuretanos y copolímeros de los mismos, celulosas, polirropileno, polietilenos, poliestireno, polímeros de ácido láctico y ácido glicólico, polianhídridos, poli(orto)ésteres, poli(ácido bórico), poli(ácido valérico), poli(láctido-co-caprolactona), polisacáridos, proteínas, ácidos polihialurónicos, policianoacrilatos y combinaciones, mezclas o copolímeros de los mismos.

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos, que consisten en 6, 7 o 8 unidades de glucosa, designadas mediante las letras griegas  $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\gamma$ , respectivamente. Las unidades de glucosa se unen mediante enlaces  $\alpha$ -1,4-glucosídicos. Como consecuencia de la conformación de silla de las unidades sacáridas, todos los grupos hidroxilo secundarios (en C-2, C-3) se sitúan en un lado del anillo, mientras que todos los grupos hidroxilo primarios en C-6 se sitúan en el otro lado. En consecuencia, las caras externas son hidrofílicas, con lo que las ciclodextrinas son solubles en agua. En contraste, las cavidades de las ciclodextrinas son hidrofóbicas, ya que están revestidas por el hidrógeno de los átomos C-3 y C-5 y por oxígenos de tipo éter. Estas matrices permiten el acomplejamiento con una diversidad de compuestos relativamente hidrofóbicos, incluyendo, por ejemplo, compuestos esteroides, tales como 17 $\alpha$ -estradiol (ver, p.ej., van Uden et al., *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 38:1-3-113, 1994). El acomplejamiento tiene lugar mediante interacciones de van der Waals y mediante formación de enlaces de hidrógeno. Para una revisión general de la química de las ciclodextrinas, ver Wenz, *Agnew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 33:803-822, 1994.

Las propiedades fisicoquímicas de los derivados de ciclodextrina dependen fuertemente del tipo y grado de sustitución. Por ejemplo, su solubilidad en agua va de insoluble (p.ej., triacetil-beta-ciclodextrina) a 147% soluble (p/v) (G-2-beta-ciclodextrina). Además, son solubles en muchos solventes orgánicos. Las propiedades de las ciclodextrinas permiten el control de la solubilidad de diversos componentes de la formulación mediante el incremento o reducción de su solubilidad.

Se han descrito numerosas ciclodextrinas y métodos para su preparación. Por ejemplo, Parmeter (I) et al., patente US n° 3.453.259 y Gramera et al., patente US n° 3.459.731, describen ciclodextrinas electroneutras. Entre otros derivados se incluyen ciclodextrinas con propiedades catiónicas [Parmeter (II), patente US n° 3.453.257], ciclodextrinas entrecruzadas insolubles (Solms, patente US n° 3.420.788) y ciclodextrinas con propiedades aniónicas [Parmeter (III), patente US n° 3.426.011]. Entre los derivados de ciclodextrina con propiedades aniónicas, los ácidos carboxílicos,

ácidos fosforosos, ácidos fosfinosos, ácidos fosfónicos, ácidos fosfóricos, ácidos tiosulfónicos, ácidos tiosulfónicos y ácidos sulfónicos se han adjuntan a la ciclodextrina parental [ver Parmeter (III), supra]. Además, derivados de sulfoalquil-éter ciclodextrina han sido descritos por Stella et al. (patente US nº 5.134.127).

5 Los liposomas consisten en por lo menos una membrana de bicapa lipídica que circunda un compartimiento interno acuoso. Los liposomas pueden caracterizarse por el tipo de membrana y por el tamaño. Las vesículas unilamelares pequeñas (VUP) presentan una única membrana y típicamente presenta un diámetro de entre 0,02 y 0,05 µm; las vesículas unilamelares grandes (VUG) típicamente son mayores de 0,05 µm. Las vesículas grandes oligolamelares y las vesículas multilamelares presentan múltiples capas de membrana, habitualmente concéntricas, y típicamente  
10 presentan un tamaño superior a 0,1 µm. Los liposomas con varias membranas no concéntricas, es decir, varias vesículas más pequeñas contenidas dentro de una vesícula mayor, se denominan vesículas multivesiculares.

Un aspecto de la presente invención se refiere a formulaciones que comprenden liposomas que contienen un oligómero de la presente invención, donde la membrana del liposoma se formula para proporcionar un liposoma con  
15 capacidad de carga incrementada. Alternativa o adicionalmente, el compuesto de la presente invención puede encontrarse contenido dentro, o adsorbido sobre, la bicapa lipídica del liposoma. Un oligómero de la presente invención puede agregarse con un surfactante lipídico y transportarse dentro del espacio interno del liposoma; en estos casos, la membrana del liposoma se formula para resistir los efectos disruptivos del agregado de agente activo-surfactante.

20 Según una realización de la presente invención, la bicapa lipídica de un liposoma contiene lípidos derivatizados con polietilenglicol (PEG), de manera que la cadena de PEG se extiende desde la superficie interior de la bicapa lipídica hacia el interior del espacio interno encapsulado por el liposoma, y se extiende desde el exterior de la bicapa lipídica hasta el interior del medio circundante.

25 Los agentes activos contenidos dentro de los liposomas de la presente invención se encuentran en forma solubilizada. Pueden atraparse agregados de surfactante y agente activo (tal como emulsiones o micelas que contienen el agente activo de interés) dentro del espacio interior de los liposomas según la presente invención. Un surfactante actúa dispersando y solubilizando el agente activo y puede seleccionarse de cualquier surfactante alifático, cicloalifático o aromático adecuado, incluyendo, aunque sin limitación, lisofosfatidilcolinas (LFC) biocompatibles de longitudes de  
30 cadena variables (por ejemplo, de aproximadamente C14 a aproximadamente C20). Los lípidos derivatizados con polímero, tales como los PEG-lípidos, también pueden utilizarse para la formación de micelas, ya que actúan inhibiendo la fusión de micela/membrana y la adición de un polímero a moléculas de surfactante reduce la CMC del surfactante y ayuda en la formación de micelas. Resultan preferentes los surfactantes con CMC en el rango micromolar; los surfactantes de CMC más elevada pueden utilizarse para preparar micelas atrapadas dentro de liposomas de la  
35 presente invención.

Los liposomas según la presente invención pueden prepararse mediante cualquiera de una diversidad de técnicas que son conocidas en la técnica. Ver, p.ej., la patente US nº 4.235.871, solicitudes publicadas de patente PCT nº WO 96/14057; New RRC, Liposomes: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), páginas 33 a 104; Lasic DD,  
40 Liposomes from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1993. Por ejemplo, pueden prepararse liposomas de la presente invención mediante la difusión de un lípido derivatizado con un polímero hidrofílico en liposomas preformados, tal como mediante la exposición de liposomas preformados a micelas compuestas de polímeros injertados con lípido, a concentraciones de lípido correspondientes al porcentaje molar final de lípido derivatizado que se desea en el liposoma. Los liposomas que contienen un polímero hidrofílico también pueden  
45 formarse mediante técnicas de homogeneización, hidratación de campo lipídico o extrusión, tales como las conocidas en la técnica.

En otro procedimiento de formulación ejemplar, el agente activo en primer lugar se dispersa mediante sonicación en una lisofosfatidilcolina u otro surfactante de CMC baja (incluyendo lípidos injertados con polímero) que solubiliza  
50 fácilmente las moléculas hidrofóbicas. La suspensión micelar resultante del agente activo seguidamente se utiliza para rehidratar una muestra lipídica seca que contiene un porcentaje molar adecuado de lípido injertado con polímero, o colesterol. La suspensión de lípido y agente activo seguidamente se forma en liposomas utilizando técnicas de extrusión tales como las conocidas en la técnica y los liposomas resultantes se separan de la solución no encapsulada mediante separación en columna estándar.

55 En un aspecto de la presente invención, los liposomas se preparan para que presenten tamaños sustancialmente homogéneos en un intervalo de tamaños seleccionado. Un método de dimensionado eficaz implica extrusionar una suspensión acuosa de los liposomas a través de una serie de membranas de policarbonato que presentan un tamaño de poro uniforme seleccionado; el tamaño de poro de la membrana se corresponderá aproximadamente con los  
60 tamaños más grandes de liposoma producidos por la extrusión a través de esa membrana. Ver, p.ej., la patente US nº 4.737.323 (12 de abril de 1988). En determinadas realizaciones, pueden utilizarse reactivos tales como DharmaFECT® y Lipofectamine® para introducir polinucleótidos o proteínas en las células.

Las características de liberación de una formulación de la presente invención dependen del material de encapsulado,  
65 de la concentración del fármaco encapsulado y de la presencia de modificadores de liberación. Por ejemplo, la liberación puede manipularse para que sea dependiente del pH, por ejemplo utilizando un recubrimiento sensible al

pH que libere únicamente a un pH bajo, tal como en el estómago, o a un pH más alto, tal como en el intestino. Puede utilizarse un recubrimiento entérico para evitar que se produzca la liberación hasta después del paso por el estómago. Pueden utilizarse múltiples recubrimientos o mezclas de cianamida encapsulada en diferentes materiales para obtener una liberación inicial en el estómago, seguido de la liberación posterior en el intestino. La liberación también puede manipularse mediante inclusión de sales o agentes formadores de poro, que pueden incrementar la incorporación de agua o la liberación de fármaco mediante difusión a partir de la cápsula. También pueden utilizarse excipientes que modifican la solubilidad del fármaco para controlar la tasa de liberación. También pueden incorporarse agentes que potencian la degradación de la matriz o la liberación a partir de la matriz. Pueden añadirse al fármaco, añadirse como una fase separada (es decir, como particulados) o pueden codisolverse en la fase de polímero dependiendo del compuesto. En la mayoría de casos, la cantidad debe ser de entre 0,1 y treinta por ciento (p/p de polímero). Entre los tipos de intensificador de degradación se incluyen sales inorgánicas, tales como sulfato amónico y cloruro amónico, ácidos orgánicos tales como ácido cítrico, ácido benzoico y ácido ascórbico; bases inorgánicas, tales como carbonato sódico, carbonato de potasio, carbonato de calcio, carbonato de cinc e hidróxido de cinc, y bases orgánicas, tales como sulfato de protamina, espermina, colina, etanolamina, dietanolamina y trietanolamina y surfactantes, tales como Tween® y Pluronic®. Se añaden como particulados agentes formadores de poro que añaden microestructura a las matrices (es decir, compuestos solubles en agua, tales como sales inorgánicas y azúcares). El rango es típicamente de entre uno y treinta por ciento (p/p de polímero).

La incorporación también puede manipularse mediante la alteración del tiempo de residencia de las partículas en el tracto intestinal. Lo anterior puede conseguirse, por ejemplo, mediante recubrimiento de la partícula con un polímero adhesivo mucosal o seleccionando como material de encapsulado un polímero adhesivo mucosal. Entre los ejemplos se incluyen la mayoría de polímeros con grupos carboxilo libres, tales como quitosano, celulosas y especialmente poliácridatos (tal como se utiliza en la presente memoria, poliácridato se refiere a polímeros que incluyen grupos acrilato y grupos acrilato modificados, tales como cianoacrilatos y metacrilatos).

Un oligómero puede formularse para encontrarse contenido o adaptado para la liberación por un dispositivo o implante quirúrgico o médico. En determinados aspectos, un implante puede recubrirse o tratarse de otro modo con un oligómero. Por ejemplo, pueden utilizarse hidrogeles, u otros polímeros, tales como polímeros biocompatibles y/o biodegradables, para recubrir un implante con las composiciones de la presente invención (es decir, la composición puede adaptarse para la utilización con un dispositivo médico mediante la utilización de un hidrogel u otro polímero). Los polímeros y copolímeros para el recubrimiento de dispositivos médicos con un agente son bien conocidos en la técnica. Entre los ejemplos de implantes se incluyen, aunque sin limitación, stents, stents de elución de fármaco, suturas, prótesis, catéteres vasculares, catéteres de diálisis, injertos vasculares, válvulas cardíacas prostéticas, marcapasos cardíacos, desfibriladores cardioversores implantables, agujas IV, dispositivos para la consolidación y formación ósea, tales como clavos, tornillos, placas y otros dispositivos, y matrices de tejido artificiales para la cicatrización de heridas.

Además de los métodos proporcionados en la presente memoria, pueden formularse los oligómeros utilizados según la invención para la administración de cualquier manera conveniente para la utilización en medicina humana o veterinaria, por analogía con otros farmacéuticos. Los oligómeros antisentido y sus formulaciones correspondientes pueden administrarse solas o en combinación con otras estrategias terapéuticas en el tratamiento de la distrofia muscular, tal como el trasplante de mioblastos, las terapias con células madre, la administración de antibióticos aminoglucósidos, los inhibidores del proteasoma y las terapias de regulación positiva (p.ej., la regulación positiva de la utrofina, un parólogo autosómico de la distrofina).

## REFERENCIAS

- Aartsma-Rus, A., A. A. Janson, et al. (2004). "Antisense-induced multiexon skipping for Duchenne muscular dystrophy makes more sense." *Am. J. Hum. Genet.* 74(1): 83-92.
- Dunckley, M. G., I. C. Eperon, et al. (1997). "Modulation of splicing in the DMD gene by antisense oligoribonucleotides." *Nucleosides & Nucleotides* 16(7-9): 1665-1668.
- Dunckley, M. G., M. Manoharan, et al. (1998). "Modification of splicing in the dystrophin gene in cultured Mdx muscle cells by antisense oligoribonucleotides." *Hum. Mol. Genet.* 7(7): 1083-90.
- Errington, S. J., C. J. Mann, et al. (2003). "Target selection for antisense oligonucleotide induced exon skipping in the dystrophin gene." *J. Gene Med.* 5(6): 518-27.
- Jearawiriyapaisarn, N., H. M. Moulton, et al. (2008). "Sustained Dystrophin Expression Induced by Peptide-conjugated Morpholino Oligomers in the Muscles of mdx Mice." *Mol. Ther.*
- Lu, Q. L., C. J. Mann, et al. (2003). "Functional amounts of dystrophin produced by skipping the mutated exon in the mdx dystrophic mouse." *Nat. Med.* 9(8): 1009-14.
- Mann, C. J., K. Honeyman, et al. (2002). "Improved antisense oligonucleotide induced exon skipping in the mdx mouse model of muscular dystrophy." *J. Gene Med.* 4(6): 644-54.
- Marshall, N. B., S. K. Oda, et al. (2007). "Arginine-rich cell-penetrating peptides facilitate delivery of antisense oligomers into murine leukocytes and alter pre-mRNA splicing." *Journal of Immunological Methods* 325(1-2): 114-126.
- Matsuo, M., T. Masumura, et al. (1991). "Exon skipping during splicing of dystrophin mRNA precursor due to an intraexon deletion in the dystrophin gene of Duchenne muscular dystrophy kobe." *J. Clin. Invest.* 87(6): 2127-31.

- Monaco, A. P., C. J. Bertelson, et al. (1988). "An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus." *Genomics* 2(1): 90-5.
- Pramono, Z. A., Y. Takeshima, et al. (1996). "Induction of exon skipping of the dystrophin transcript in lymphoblastoid cells by transfecting an antisense oligodeoxynucleotide complementary to an exon recognition sequence." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 226(2): 445-9.
- 5 Sazani, P., R. Kole, et al. (2007). Splice switching oligomers for the TNF superfamily receptors and their use in treatment of disease. PCT WO2007058894, University of North Carolina
- Sierakowska, H., M. J. Sambade, et al. (1996). "Repair of thalassemic human beta-globin mRNA in mammalian cells by antisense oligonucleotides." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93(23): 12840-4.
- 10 Summerton, J. y D. Weller (1997). "Morpholino antisense oligomers: design, preparation, and properties." *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 7(3): 187-95.
- Takeshima, Y., H. Nishio, et al. (1995). "Modulation of in vitro splicing of the upstream intron by modifying an intra-exon sequence which is deleted from the dystrophin gene in dystrophin Kobe." *J. Clin. Invest.* 95(2): 515-20.
- 15 van Deutekom, J. C., M. Bremmer-Bout, et al. (2001). "Antisense-induced exon skipping restores dystrophin expression in DMD patient derived muscle cells." *Hum. Mol. Genet.* 10(15): 1547-54.
- van Deutekom, J. C., A. A. Janson, et al. (2007). "Local dystrophin restoration with antisense oligonucleotide PRO051." *N. Engl. J. Med.* 357(26): 2677-86.
- Wilton, S. D., A. M. Fall, et al. (2007). "Antisense oligonucleotide-induced exon skipping across the human dystrophin gene transcript." *Mol. Ther.* 15(7): 1288-96.
- 20 Wilton, S. D., F. Lloyd, et al. (1999). "Specific removal of the nonsense mutation from the mdx dystrophin mRNA using antisense oligonucleotides." *Neuromuscul. Disord.* 9(5): 330-8.
- Wu, B., H. M. Moulton, et al. (2008). "Effective rescue of dystrophin improves cardiac function in dystrophin-deficient mice by a modified morpholino oligomer." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105(39): 14814-9.
- 25 Yin, H., H. M. Moulton, et al. (2008). "Cell-penetrating peptide-conjugated antisense oligonucleotides restore systemic muscle and cardiac dystrophin expression and function." *Hum. Mol. Genet.* 17(24): 3909-18.

## Ejemplos

### Materiales y métodos

- 30 Condiciones de tratamiento de cultivos celulares y tejidos
- Las células de rhabdomyosarcoma humanas (ATCC nº CCL-136; células RD) conservadas en una solución de DMSO al 5% (Sigma) a un número de pases bajo se descongelaron en un baño de agua a 37°C hasta que el hielo ya no era visible. Las células se sembraron en matraces T75 tratados para el cultivo de tejidos (Nunc) a razón de  $1,5 \times 10^6$  células/matraz en 24 ml de DMEM caliente con L-glutamina (HyClone), suero de feto bovino al 10% y solución de antibióticos penicilina-estreptomina al 1% (CelGro); tras 24 horas, se aspiró el medio, se lavaron las células una vez en PBS caliente y se añadió medio fresco. Las células se cultivaron hasta una confluencia del 80% en un incubador a 37°C con 5,0% de CO<sub>2</sub>.
- 40 Se aspiró el medio de los matraces T75; se lavaron las células una vez en PBS caliente y se aspiraron. Se añadieron 3 ml de tripsina/EDTA, calentados en un baño de agua a 37°C, a cada T75. Las células se incubaron a 37°C durante 2 a 5 minutos, bajo agitación suave, hasta desengancharlas del matraz. La suspensión celular se transfirió a un tubo cónico de 15,0 ml; los matraces se enjuagaron con 1,0 ml de solución de tripsina/EDTA para recolectar las células restantes. Las células se contaron con un contador celular Vi-Cell XR (Beckman Coulter). Las células se sembraron en placas de 12 pocillos tratadas para el cultivo de tejidos (Falcon) a razón de  $2,0 \times 10^5$  células viables por pocillo en 1,0 ml de medio. Las células se incubaron durante la noche en un incubador a 37°C con 5,0% de CO<sub>2</sub>.
- 45 Se examinaron las placas sembradas de 12 pocillos para una distribución celular y adherencia a la placa uniformes. Los oligómeros morfolino fosforodiamidato conjugados con péptido liofilizado (OMFF) se resuspendieron en agua libre de nucleasas (Ambion) hasta 2,0 mM y se mantuvieron sobre hielo durante el tratamiento celular; para verificar la molaridad, los OMFF se midieron utilizando un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific). Inmediatamente antes del tratamiento con OMFF, se aspiró el medio y las células se enjuagaron en PBS caliente. Se diluyeron los OMFF en medio caliente hasta la molaridad deseada; las células se trataron en un total de 1,0 ml de OMFF por pocillo.
- 50 Los OMFF se sometieron a ensayo por triplicado. Para los controles sin tratamiento, se añadió medio caliente en un volumen total de 1,0 ml. Las células se incubaron durante 48 horas en un incubador a 37°C con 5,0% de CO<sub>2</sub>.

### Extracción del ARN

- 60 Se aspiró el medio y las células se enjuagaron en PBS caliente. Se extrajo el ARN con el sistema QuickGene-Min80, el kit QuickGene RNA cultured clél HC kit S y MagNalyser con homogeneización con microesferas cerámicas, siguiendo los protocolos recomendados por el fabricante. Brevemente, las células se lisaron en placas de tratamiento con 350 µl de tampón de lisis LRP (10 µl de β-mercaptoetanol añadido por cada 100 µl de LRP); el homogenado se trituró suavemente para garantizar la lisis completa y se transfirió a tubos MagNalyser. Los tubos se centrifugaron a 2.800 rpm durante 30 segundos en el MagNalyser para garantizar la homogeneización completa y se congelaron brevemente. Se añadieron 50 µl de tampón de solubilización SRP y el homogenado se agitó con vórtex durante 15

segundos. Se añadieron 170 µl de etanol >99% a cada tubo y el homogenado se agitó con vórtex durante 60 segundos. El homogenado se sometió a centrifugación instantánea y se transfirió a cartuchos de ARN Mini80; las muestras se presurizaron y el eluido se descartó. Los cartuchos se lavaron en 750 µl de tampón de lavado WRP y se presurizaron. Se añadieron 40 µl de solución de ADNasa (1,25 µl de ADNasa I Qiagen, 35 µl de tampón RDD, 3,75 µl de agua libre de nucleasas) directamente a la membrana del cartucho; los cartuchos se incubaron durante cuatro minutos a temperatura ambiente. Los cartuchos se lavaron dos veces con 750 µl de WRP, presurizando después de cada lavado. Los cartuchos se colocaron sobre los tubos libres de nucleasas. Se añadieron 50 µl de tampón de elución CRP a cada membrana; las membranas se incubaron durante cinco minutos a temperatura ambiente. Se presurizaron los cartuchos y se recogió el eluido. Se almacenó el ARN a -80°C pendientes de la cuantificación. Se cuantificó el ARN utilizando el espectrofotómetro NanoDrop™ 2000.

RT-PCR anidada

Se llevó a cabo una amplificación por RT-PCR anidada optimizada específica de exón y específica de cebador, utilizando los conjuntos de parejas de cebadores para cada exón de distrofina, tal como se muestra a continuación, en la Tabla 1.

Tabla 1: conjuntos de parejas de cebadores utilizados para amplificar por PCR el ARNm de la distrofina humana para la detección de omisión exónica

Nombre	F/R	I/O	Secuencia (5'-3')	Exón	Objetivo	SEC ID nº
PS170	F	O	CCAGAGCTTTACCTGAGAAACAAG	48	Detección de la omisión de los exones 50 y 51 en la distrofina humana	640
PS172	F	I	CCAGCCACTCAGCCAGTGAAG	49		641
PS174	R	I	CGATCCGTAATGATTGTTCTAGCC	52		642
PS176	R	O	CATTTCACTCACTGTTGCCTCCG	53		643
PS186	F	O	CAATGCTCCTGACCTCTGTGC	42	Detección de la omisión de los exones 44 y 45 en la distrofina humana	644
PS187	F	I	GTCTACAACAAAGCTCAGGTCCG	43		645
PS189	F	I	GCAATGTTATCTGCTTCCCTCCAACC	46		646
PS190	R	O	GCTCTTTCCAGGTTCAAGTGG	46		647
PS192	F	O	CTTGGACAGAACTTACCGACTGG	51	Detección de la omisión del exón 53 en la distrofina humana	648
PS193	F	I	CAGGATTTGGAACAGAGGCG	52		649
PS195	R	I	CATCTACATTTGTCTGCCACTGG	54		650
PS197	R	O	GTTTCTTCAAAGCAGCCTCTCG	55		651

Las parejas de cebadores indicadas se muestran como directas o inversas (F/R) y como parejas de cebadores externos o internos (I/O), correspondientes a amplificaciones primarias o secundarias, respectivamente. La localización de la diana cebador se indica en la columna Exón y el Objetivo indica los sucesos de omisión exónica que pueden detectarse. Por ejemplo, los cebadores PS170 y PS176 amplifican una región entre los exones 48 a 53 en la amplificación primaria. Los cebadores PS172 y PS174 seguidamente amplifican una región entre los exones 49 y 52 en la amplificación secundaria. Esta reacción de PCR anidada detecta la omisión exónica del exón 50 y/o el exón 51. Las condiciones de reacción de RT-PCR anidada específica se proporcionan a continuación.

El ARN extraído de las células tratadas (indicado a continuación) se diluyó a 20 ng/µl en todas las muestras.

Tabla 2: configuración de la reacción de RT-PCR y amplificación primaria (reacción de 50 µl):

Mezcla de reacción 2x	25 µl
Cebador directo PS XXX (30 µM) (ver la Tabla 1)	0,5 µl
Cebador inverso PS XXX (30 µM) (ver la Tabla 1)	0,5 µl
Mezcla Superscript III Platinum <i>Taq</i>	2 µl
ARN molde (20 ng/µl)	10 µl
Agua libre de nucleasas (volumen total: 50 µl)	12 µl

Tabla 3: RT-PCR y programa de amplificación primaria:

	Temperatura	Tiempo	
Transcripción inversa	55°C	30 minutos	8 ciclos
inactivación de RT	94°C	2 minutos	
Desnaturalización	94°C	1 minuto	
Hibridación	59°C	1 minuto	
Elongación	68°C	1 minuto	
	4°C	∞	

Tabla 4: configuración de la reacción para la amplificación secundaria anidada (reacción de 50  $\mu$ l):

Tampón de PCR 10x	5 $\mu$ l
Solución de dNTP (10 mM)	0,5 $\mu$ l
MgCl 50 mM	1,5 $\mu$ l
Cebador directo PS XXX (30 $\mu$ M) (ver la Tabla 1)	0,33 $\mu$ l
Cebador inverso PS XXX (30 $\mu$ M) (ver la Tabla 1)	0,33 $\mu$ l
ADN polimerasa <i>Taq</i> Platinum	0,2 $\mu$ l
Cy5-dCTP 0,1 mM	1 $\mu$ l
Producto de RT-PCR (de la Etapa 1)	1 $\mu$ l
Agua libre de nucleasas (volumen total: 50 $\mu$ l)	40,15 $\mu$ l

Tabla 5: programa de amplificación secundaria anidada:

	Temperatura	Tiempo	
Desnaturalización primaria	94°C	3 minutos	
Desnaturalización	94°C	45 segundos	28 a 30 ciclos
Hibridación	59°C	30 segundos	
Elongación	68°C	1 minuto	
	4°C	$\infty$	

## Análisis de electroforesis en gel

Se añadieron diez microlitros de pigmento de carga Ficoll 5x a cada 50 microlitros de reacción de RT-PCR anidada. Se hicieron migrar quince microlitros de mezcla de PCR/pigmento en un gel de TBE al 10% a 300 voltios durante 30 minutos. Tras la electroforesis, el gel se lavó en H<sub>2</sub>Odi durante por lo menos una hora, cambiando el agua cada 30 minutos. A continuación, se escaneó el gel en un aparato Typhoon Trio Variable Mode Imager (GE Healthcare) Para la omisión del exón 44, el producto de RT-PCR anidado del transcrito de distrofina de longitud completa es de 571 pb y 423 pb del ARNm con omisión del exón 44 (el exón 44 es de 148 pb). Para la omisión del exón 45, el producto de RT-PCR anidado del transcrito de distrofina de longitud completa es de 571 pb y 395 pb del ARNm con omisión del exón 45 (el exón 45 es de 176 pb). Para la omisión del exón 53, el producto de PCR anidado del transcrito de distrofina de longitud completa es de 365 pb y 153 pb del ARNm con omisión del exón 53 (el exón 53 es de 212 pb).

Las imágenes del gel se sometieron a análisis cuantitativo mediante la medición de las intensidades de las bandas del producto de PCR de longitud completa en comparación con el producto con omisión exónica. En algunos casos, el porcentaje de omisión a una concentración de OMFF (p.ej., 3 micromolar) se utilizó para determinar la actividad relativa de una serie de OMFF para inducir la omisión exónica de un exón dado. En otras situaciones, se utilizó un rango de dosis de OMFF para tratar las células (p.ej., 0,1, 0,3, 1,0, 3,0 y 10 micromolar) y se calculó una EC<sub>50</sub> basándose en el porcentaje de omisión inducido a cada concentración.

## Ejemplo 1

## Escaneo del exón 51

Se diseñó, sintetizó y utilizó una serie de OMFF antisentido solapantes con diana en el exón 51 de la distrofina humana para tratar células de rhabdomyosarcoma (células RD) humanas o células de músculo esquelético humano primarias. Esta estrategia se denomina "escaneo de exones" y se utiliza de manera similar para varios otros exones de distrofina, tal como se indica a continuación. Se sintetizaron todos los OMFF como OMF (OMFF) conjugado con péptido utilizando el péptido CP06062 (SEC ID n° 578) y un enlace de OMF 3'-terminal. Para el exón 51, se preparó una serie de 26 OMFF, cada uno de 26 bases de longitud (SEC ID n° 309 a 311, 314, 316, 317, 319, 321, 323, 324, 326, 327, 329 a 331, 333, 335, 336, 338 a 345) tal como se muestran en la figura 2A. Se evaluaron los OMFF para la eficacia de omisión exónica mediante el tratamiento de células RD a diversas concentraciones, tal como se ha indicado anteriormente en la sección de Materiales y métodos. Se identificaron tres OMFF (SEC ID n° 324, 326 y 327) como eficaces en la inducción de omisión exónica y se seleccionaron para evaluación adicional. Se utilizaron experimentos de rangos de dosis en células RD y células de músculo esquelético humano primarias para confirmar la eficacia relativa de estas tres secuencias de OMFF. Se demostró que la SEC ID n° 327 era la más eficaz en la inducción de la omisión del exón 51, tal como se muestra en las figuras 2B y 2C.

Se llevó a cabo una identificación de la eficacia relativa de la SEC ID n° 327 respecto a otras secuencias antisentido con diana en el exón 51 realizada en las células RD y células de músculo esquelético humano primarias, tal como se ha indicado anteriormente. Todas las secuencias evaluadas se generaron como OMF conjugadas con péptido utilizando el péptido CP06062 (SEC ID n° 578). Lo anterior permitió una comparación directa de la eficacia relativa de las secuencias antisentido con independencia de la configuración química antisentido o la administración celular. La localización relativa de determinados oligos con diana en el exón 51 comparada con la SEC ID n° 327 se muestra en

la figura 2D. Tal como se muestra en la figura 2C, existe una jerarquía ordenada de eficacia de omisión exónica, siendo la SEC ID nº 327 la más eficaz como mínimo en un factor de varias veces en comparación con otras secuencias.

#### Ejemplo 2

5

##### Escaneo del exón 50

Se diseñó una serie de OMFF antisentido solapantes que presentaban como diana el exón 50 de la distrofina humana y se sintetizaron. Para el exón 50, se preparó una serie de 17 OMFF, cada uno de 25 bases de longitud (SEC ID nº 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 280, 282 y 284 a 291), tal como se muestra en la figura 3A. Se evaluaron los OMFF para la eficacia de omisión exónica mediante el tratamiento de células RD a diversas concentraciones, tal como se ha indicado anteriormente en la sección de Materiales y métodos. Se identificaron cuatro OMFF (SEC ID nº 277, 287, 290 y 291) como eficaces en la inducción de omisión exónica y se seleccionaron para evaluación adicional. Se utilizaron experimentos de determinación de dosis en células RD para confirmar la eficacia relativa de estas cuatro secuencias de OMF. Se demostró que las SEC ID nº 584 (AVI-5656) y 287 (AVI-5038) eran las más eficaces en la inducción de la omisión del exón 50, tal como se muestra en la fig. 3B. Se derivaron valores de ECD50 a partir de los experimentos de determinación de dosis y representan la concentración calculada, en la que el 50% del producto de PCR era de ARN sin exón 50 respecto al producto de PCR producido a partir de ARNm que contenía el exón 50. En comparación con otras secuencias (ver, p.ej., las SEC ID nº 584 y 585, correspondientes a las SEC ID nº 173 y 175 en el documento nº WO2006/000057, respectivamente), AVI-5038 (SEC ID nº 287) es equivalente o mejor en la inducción de la actividad de omisión exónica en el ensayo de células RD, tal como se muestra en la figura 3B.

#### Ejemplo 3

25

##### Escaneo del exón 53

Se diseñó una serie de OMFF antisentido solapantes que presentaban como diana el exón 53 de la distrofina humana y se sintetizaron. Para el exón 53, se generó una serie de 24 OMFF, cada uno de 25 bases de longitud (SEC ID nº 416, 418, 420, 422, 424, 426, 428, 429, 431, 433, 434, 436, 438 a 440 y 443 a 451), tal como se muestra en la figura 4A. Se evaluaron los OMFF para eficacia de omisión exónica mediante el tratamiento de las células RD y células de músculo esquelético humano primarias a diversas concentraciones, tal como se ha indicado anteriormente en la sección de Materiales y métodos. Se identificaron tres OMFF (SEC ID nº 428, 429 y 431) como eficaces en la inducción de omisión exónica y se seleccionaron para evaluación adicional. Se utilizaron experimentos de determinación de dosis en células RD para confirmar la eficacia relativa de estas tres secuencias de OMF. Se demostró que la SEC ID nº 429 era la más eficaz en la inducción de la omisión del exón 53, tal como se muestra en las figuras 4B-F. Sin embargo, al realizar la comparación con otras secuencias antisentido del exón 53, SEC ID nº 429 demostró ser idéntica a H53A(+23+47), que se lista como SEC ID nº 195 en el documento nº WO2006/000057 y la SEC ID nº 609 en la presente solicitud. Se compararon otras secuencias con la SEC ID nº 429, incluyendo H53A(+39+69) y H53A(-12+10) (listados como SEC ID nº 193 y nº 199 en el documento nº WO2006/000057, respectivamente) y h53AON1 (listado como SEC ID nº 39 en la solicitud de patente US nº 11/233,507) y listados como SEC ID nº 608, 611 y 610, respectivamente, en la presente solicitud. Todas las secuencias evaluadas se generaron como OMF conjugadas con péptido utilizando el péptido CP06062 (SEC ID nº 578). Lo anterior permitió una comparación directa de la eficacia directa de las secuencias antisentido con independencia de la configuración química antisentido o la administración celular. Tal como se muestra en las figuras 4I y 4G-H, se demostró que la SEC ID nº 429 era superior a cada una de dichas cuatro secuencias.

#### Ejemplo 4

50

##### Escaneo del exón 44

Se diseñó una serie de OMFF antisentido solapantes que presentaban como diana el exón 44 de la distrofina humana y se sintetizaron. Para el exón 44, se generó una serie de OMFF, cada uno de 25 bases de longitud (SEC ID nº 1 a nº 20) tal como se muestra en la fig. 5A. Se evaluaron los OMFF para la eficacia de omisión exónica mediante el tratamiento de células RD a diversas concentraciones, tal como se ha indicado anteriormente en la sección de Materiales y métodos. Se identificaron cinco OMFF (SEC ID nº 4, 8, 11, 12 y 13) como eficaces en la inducción de omisión exónica y se seleccionaron para la evaluación adicional. Se utilizaron experimentos de determinación de dosis en células RD para confirmar la eficacia relativa de estas cinco secuencias de OMFF, tal como se muestra en las figuras 5C a 5H. Se demostró que las SEC ID nº 8, 11 y 12 eran las más eficaces en la inducción de la omisión del exón 44, tal como se muestra en la fig. 5H, demostrando ser la más eficaz la SEC ID nº 12.

60

Se llevaron a cabo comparaciones de la SEC ID nº 12 con otras secuencias antisentido del exón 44 tanto en células RD como en células de músculo esquelético humano primarias. Todas las secuencias evaluadas se generaron como OMF conjugadas con péptido utilizando el péptido CP06062 (SEC ID nº 578). Lo anterior permitió una comparación directa de la eficacia directa de las secuencias antisentido con independencia de la configuración química antisentido o la administración celular.

65

La alineación de las secuencias (SEC ID nº 600, 601, 602 y 603) con SEC ID nº 4, 8, 11 y 12 se muestra en la figura 5B. Las SEC ID nº 601 y 603 se listan como SEC ID nº 165 y 167 en el documento nº WO2006/000057. La SEC ID nº 602 se lista en el documento nº WO2004/083446 y como SEC ID nº 21 en la solicitud de patente US nº 11/233.507. La SEC ID nº 600 se publicó en 2007 (Wilton, Fall et al., 2007). La comparación en las células RD demostró que tanto la SEC ID nº 602 como la nº 603 eran superiores a la SEC ID nº 12 (fig. 5I). Sin embargo, tal como se muestra en la figura 5J, en células de músculo esquelético primarias humanas, la SEC ID nº 12 era superior (8,86% de omisión exónica) a la SEC ID nº 602 (6,42%). Se llevaron a cabo experimentos similares con la SEC ID nº 603.

10 Ejemplo 5

Escaneo del exón 45

15 Se diseñó una serie de OMFF antisentido solapantes que presentaban como diana el exón 45 de la distrofina humana y se sintetizaron. Para el exón 45, se preparó una serie de 22 OMFF, cada uno de 25 bases de longitud (SEC ID nº 21, 23, 25, 27, 29, 31, 32, 34, 35, 37, 39, 41, 43 y 45 a 53), tal como se muestra en la figura 6A. Se evaluaron los OMFF para eficacia de omisión exónica mediante el tratamiento de las células RD y células de músculo esquelético humano primarias a diversas concentraciones, tal como se ha indicado anteriormente en la sección de Materiales y métodos. Se identificaron cinco OMFF (SEC ID nº 27, 29, 34 y 39) como eficaces en la inducción de omisión exónica y se seleccionaron para la evaluación adicional. Se utilizaron experimentos de determinación de dosis en células RD para confirmar la eficacia relativa de estas cuatro secuencias de OMFF, tal como se muestra en las figuras 6C-G y se resume en la figura 6H. Se utilizó la SEC ID nº 49 como control negativo en estos experimentos. Se demostró que las SEC ID nº 29 y 34 era la más eficaz en la inducción de la omisión del exón 45, tal como se muestra en la fig. 6H.

25 Se llevaron a cabo una comparación de la SEC ID nº 34 con otras secuencias antisentido del exón 45 tanto en células RD como en células de músculo esquelético humano primarias. Todas las secuencias evaluadas se generaron como OMF conjugadas con péptido utilizando el péptido CP06062 (SEC ID nº 578). Lo anterior permitió una comparación directa de la eficacia directa de las secuencias antisentido con independencia de la configuración química antisentido o la administración celular. La alineación de las secuencias (SEC ID nº 604, 605, 606 y 607) con SEC ID nº 27, 29, 34 y 39 se muestra en la figura 6B. Las SEC ID nº 604 y 607 se listan como SEC ID nº 211 y 207 en el documento nº WO2006/000057, respectivamente. Se listaron las SEC ID nº 605 y nº 606 en la solicitud de patente US nº 11/233.507 como SEC ID nº 23 y 1, respectivamente. La comparación en las células RD demostró que la SEC ID nº 34 era superior a la totalidad de las cuatro secuencias evaluadas, tal como se muestra en la figura 6I. El ensayo de estos compuestos en diferentes poblaciones de células primarias de músculo esquelético humano se llevó a cabo tal como se ha indicado anteriormente.

LISTADO DE ID DE SECUENCIA

40 Se muestran las secuencias utilizando los símbolos de base nucleótido comunes para el ADN: A, G, C y T. Otras químicas de las moléculas antisentido, tales como 2'-O-metilo utilizan U en lugar de T. Cualquiera de las bases puede sustituirse por inosina (I), especialmente en tramos de tres o más residuos de G.

Nombre	Secuencias	SEC ID nº
Secuencias con diana en oligómeros (5' a 3'):		
Hu.DMD.Exón44.25.001	CTGCAGGTAAAAGCATATGGATCAA	1
Hu.DMD.Exón44.25.002	ATCGCCTGCAGGTAAAAGCATATGG	2
Hu.DMD.Exón44.25.003	GTCAAATCGCCTGCAGGTAAAAGCA	3
Hu.DMD.Exón44.25.004	GATCTGTCAAATCGCCTGCAGGTAA	4
Hu.DMD.Exón44.25.005	CAACAGATCTGTCAAATCGCCTGCA	5
Hu.DMD.Exón44.25.006	TTTCTCAACAGATCTGTCAAATCGC	6
Hu.DMD.Exón44.25.007	CCATTTCTCAACAGATCTGTCAAAT	7
Hu.DMD.Exón44.25.008	ATAATGAAAACGCCCATTTCTCA	8
Hu.DMD.Exón44.25.009	AAATATCTTTATATCATAATGAAAA	9
Hu.DMD.Exón44.25.010	TGTTAGCCACTGATTAATATCTTT	10
Hu.DMD.Exón44.25.011	AAACTGTTGAGCTTCTGTTAGCCAC	11
Hu.DMD.Exón44.25.012	TTGTGTCTTTCTGAGAACTGTTCA	12
Hu.DMD.Exón44.25.013	CCAATTCTCAGGAATTTGTGTCTTT	13
Hu.DMD.Exón44.25.014	GTATTTAGCATGTTCCCAATTCTCA	14
Hu.DMD.Exón44.25.015	CTTAAGATACCATTTGTATTTAGCA	15
Hu.DMD.Exón44.25.016	CTTACCTTAAGATACCATTTGTATT	16
Hu.DMD.Exón44.25.017	AAAGACTTACCTTAAGATACCATTT	17
Hu.DMD.Exón44.25.018	AAATCAAAGACTTACCTTAAGATAC	18
Hu.DMD.Exón44.25.019	AAAACAAAACAAAGACTTACCTTAA	19
Hu.DMD.Exón44.25.020	TCGAAAAAACAAATCAAAGACTTAC	20
Hu.DMD.Exón45.25.001	CTGTAAGATACAAAAAGGCAAAC	21

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón45.25.002	CCTGTAAGATACCAAAAAGGCAAAA	22
Hu.DMD.Exón45.25.002.2	AGTTCCTGTAAGATACCAAAAAGGC	23
Hu.DMD.Exón45.25.003	GAGTTCCTGTAAGATACCAAAAAGG	24
Hu.DMD.Exón45.25.003.2	CCTGGAGTTCCTGTAAGATACCAAA	25
Hu.DMD.Exón45.25.004	TCCTGGAGTTCCTGTAAGATACCAA	26
Hu.DMD.Exón45.25.004.2	GCCATCCTGGAGTTCCTGTAAGATA	27
Hu.DMD.Exón45.25.005	TGCCATCCTGGAGTTCCTGTAAGAT	28
Hu.DMD.Exón45.25.005.2	CCAATGCCATCCTGGAGTTCCTGTA	29
Hu.DMD.Exón45.25.006	CCAATGCCATCCTGGAGTTCCTGT	30
Hu.DMD.Exón45.25.006.2	GCTGCCCAATGCCATCCTGGAGTTC	31
Hu.DMD.Exón45.25.007	CGCTGCCCAATGCCATCCTGGAGTT	32
Hu.DMD.Exón45.25.008	AACAGTTTGCCGCTGCCCAATGCCA	33
Hu.DMD.Exón45.25.008.2	CTGACAACAGTTTGCCGCTGCCCAA	34
Hu.DMD.Exón45.25.009	GTTGCATTCAATGTTCTGACAACAG	35
Hu.DMD.Exón45.25.010	GCTGAATTATTTCTTCCCAGTTGC	36
Hu.DMD.Exón45.25.010.2	ATTATTTCTTCCCAGTTGCATTCA	37
Hu.DMD.Exón45.25.011	GGCATCTGTTTTGAGGATTGCTGA	38
Hu.DMD.Exón45.25.011.2	TTTGAGGATTGCTGAATTATTTCTT	39
Hu.DMD.Exón45.25.012	AATTTTTCTGTAGAATACTGGCAT	40
Hu.DMD.Exón45.25.012.2	ATACTGGCATGTTTTGAGGATT	41
Hu.DMD.Exón45.25.013	ACCGCAGATTCAGGCTTCCCAATTT	42
Hu.DMD.Exón45.25.013.2	AATTTTTCTGTAGAATACTGGCAT	43
Hu.DMD.Exón45.25.014	CTGTTTGCAGACCTCCTGCCACCGC	44
Hu.DMD.Exón45.25.014.2	AGATTCAGGCTTCCCAATTTTCTT	45
Hu.DMD.Exón45.25.015	CTCTTTTTCTGTCTGACAGCTGTT	46
Hu.DMD.Exón45.25.015.2	ACCTCCTGCCACCGCAGATTCAGGC	47
Hu.DMD.Exón45.25.016	CCTACCTCTTTTTCTGTCTGACAG	48
Hu.DMD.Exón45.25.016.2	GACAGCTGTTTGCAGACCTCCTGCC	49
Hu.DMD.Exón45.25.017	GTCGCCCTACCTCTTTTTCTGTCT	50
Hu.DMD.Exón45.25.018	GATCTGTGCGCCCTACCTCTTTTTTC	51
Hu.DMD.Exón45.25.019	TATTAGATCTGTGCGCCCTACCTCTT	52
Hu.DMD.Exón45.25.020	ATTCCTATTAGATCTGTGCGCCCTAC	53
Hu.DMD.Exón45.20.001	AGATACCAAAAAGGCAAAAC	54
Hu.DMD.Exón45.20.002	AAGATACCAAAAAGGCAAAA	55
Hu.DMD.Exón45.20.003	CCTGTAAGATACCAAAAAGG	56
Hu.DMD.Exón45.20.004	GAGTTCCTGTAAGATACCAA	57
Hu.DMD.Exón45.20.005	TCCTGGAGTTCCTGTAAGAT	58
Hu.DMD.Exón45.20.006	TGCCATCCTGGAGTTCCTGT	59
Hu.DMD.Exón45.20.007	CCAATGCCATCCTGGAGTT	60
Hu.DMD.Exón45.20.008	CGCTGCCCAATGCCATCCTG	61
Hu.DMD.Exón45.20.009	CTGACAACAGTTTGCCGCTG	62
Hu.DMD.Exón45.20.010	GTTGCATTCAATGTTCTGAC	63
Hu.DMD.Exón45.20.011	ATTATTTCTTCCCAGTTGC	64
Hu.DMD.Exón45.20.012	TTTGAGGATTGCTGAATTAT	65
Hu.DMD.Exón45.20.013	ATACTGGCATCTGTTTTGA	66
Hu.DMD.Exón45.20.014	AATTTTTCTGTAGAATACT	67
Hu.DMD.Exón45.20.015	AGATTCAGGCTTCCCAATTT	68
Hu.DMD.Exón45.20.016	ACCTCCTGCCACCGCAGATT	69
Hu.DMD.Exón45.20.017	GACAGCTGTTTGCAGACCTC	70
Hu.DMD.Exón45.20.018	CTCTTTTTCTGTCTGACAG	71
Hu.DMD.Exón45.20.019	CCTACCTCTTTTTCTGTCT	72
Hu.DMD.Exón45.20.020	GTCGCCCTACCTCTTTTTTC	73
Hu.DMD.Exón45.20.021	GATCTGTGCGCCCTACCTCTT	74
Hu.DMD.Exón45.20.022	TATTAGATCTGTGCGCCCTAC	75
Hu.DMD.Exón45.20.023	ATTCCTATTAGATCTGTGCGC	76
Hu.DMD.Exón46.25.001	GGGGGATTTGAGAAAATAAAATTAC	77
Hu.DMD.Exón46.25.002	ATTTGAGAAAATAAAATTACCTTGA	78
Hu.DMD.Exón46.25.002.2	CTAGCCTGGAGAAAGAAGAATAAAA	79
Hu.DMD.Exón46.25.003	AGAAAATAAAATTACCTTGACTTGC	80
Hu.DMD.Exón46.25.003.2	TTCTTCTAGCCTGGAGAAAGAAGAA	81
Hu.DMD.Exón46.25.004	ATAAAATTACCTTGACTTGCTCAAG	82
Hu.DMD.Exón46.25.004.2	TTTTGTTCTTCTAGCCTGGAGAAAG	83
Hu.DMD.Exón46.25.005	ATTACCTTGACTTGCTCAAGCTTTT	84

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón46.25.005.2	TATTCTTTTGTCTTCTAGCCTGGA	85
Hu.DMD.Exón46.25.006	CTTGACTTGCTCAAGCTTTTCTTTT	86
Hu.DMD.Exón46.25.006.2	CAAGATATTCTTTTGTCTTCTAGC	87
Hu.DMD.Exón46.25.007	CTTTTAGTTGCTGCTCTTTTCCAGG	88
Hu.DMD.Exón46.25.008	CCAGGTTCAAGTGGGATACTAGCAA	89
Hu.DMD.Exón46.25.008.2	ATCTCTTTGAAATCTGACAAGATA	90
Hu.DMD.Exón46.25.009	AGCAATGTTATCTGCTTCCCTCAAC	91
Hu.DMD.Exón46.25.009.2	AACAAATTCATTTAAATCTCTTTGA	92
Hu.DMD.Exón46.25.010	CCAACCATAAAACAAATTCATTTAA	93
Hu.DMD.Exón46.25.010.2	TTCCTCCAACCATAAAACAAATTC	94
Hu.DMD.Exón46.25.011	TTTAAATCTCTTTGAAATCTGACA	95
Hu.DMD.Exón46.25.012	TGACAAGATATTCTTTTGTCTTCT	96
Hu.DMD.Exón46.25.012.2	TTCAAGTGGGATACTAGCAATGTTA	97
Hu.DMD.Exón46.25.013	AGATATTCTTTTGTCTTCTAGCCT	98
Hu.DMD.Exón46.25.013.2	CTGCTCTTTTCCAGGTTCAAGTGGG	99
Hu.DMD.Exón46.25.014	TTCTTTTGTCTTCTAGCCTGGAGA	100
Hu.DMD.Exón46.25.014.2	CTTTTCTTTTAGTTGCTGCTCTTTT	101
Hu.DMD.Exón46.25.015	TTGTTCTTCTAGCCTGGAGAAAGAA	102
Hu.DMD.Exón46.25.016	CTTCTAGCCTGGAGAAAGAAGAATA	103
Hu.DMD.Exón46.25.017	AGCCTGGAGAAAGAAGAATAAAAT	104
Hu.DMD.Exón46.25.018	CTGGAGAAAGAAGAATAAAATTGTT	105
Hu.DMD.Exón46.20.001	GAAAGAAGAATAAAATTGTT	106
Hu.DMD.Exón46.20.002	GGAGAAAGAAGAATAAAAT	107
Hu.DMD.Exón46.20.003	AGCCTGGAGAAAGAAGAATA	108
Hu.DMD.Exón46.20.004	CTTCTAGCCTGGAGAAAGAA	109
Hu.DMD.Exón46.20.005	TTGTTCTTCTAGCCTGGAGA	110
Hu.DMD.Exón46.20.006	TTCTTTTGTCTTCTAGCCT	111
Hu.DMD.Exón46.20.007	TGACAAGATATTCTTTTGT	112
Hu.DMD.Exón46.20.008	ATCTCTTTGAAATCTGACA	113
Hu.DMD.Exón46.20.009	AACAAATTCATTTAAATCTC	114
Hu.DMD.Exón46.20.010	TTCCTCCAACCATAAAACAA	115
Hu.DMD.Exón46.20.011	AGCAATGTTATCTGCTTCCCT	116
Hu.DMD.Exón46.20.012	TTCAAGTGGGATACTAGCAA	117
Hu.DMD.Exón46.20.013	CTGCTCTTTTCCAGGTTCAA	118
Hu.DMD.Exón46.20.014	CTTTTCTTTTAGTTGCTGCT	119
Hu.DMD.Exón46.20.015	CTTGACTTGCTCAAGCTTTT	120
Hu.DMD.Exón46.20.016	ATTACCTTGACTTGCTCAAG	121
Hu.DMD.Exón46.20.017	ATAAAATTACCTTGACTTGC	122
Hu.DMD.Exón46.20.018	AGAAAATAAAATTACCTTGA	123
Hu.DMD.Exón46.20.019	ATTTGAGAAAATAAAATTAC	124
Hu.DMD.Exón46.20.020	GGGGGATTTGAGAAAATAAA	125
Hu.DMD.Exón47.25.001	CTGAAACAGACAAATGCAACAACGT	126
Hu.DMD.Exón47.25.002	AGTAACTGAAACAGACAAATGCAAC	127
Hu.DMD.Exón47.25.003	CCACCAGTAACTGAAACAGACAAAT	128
Hu.DMD.Exón47.25.004	CTCTCCACCAGTAACTGAAACAGA	129
Hu.DMD.Exón47.25.005	GGCAACTCTTCCACCAGTAACTGAA	130
Hu.DMD.Exón47.25.006	GCAGGGGCAACTCTTCCACCAGTAA	131
Hu.DMD.Exón47.25.007	CTGGCGCAGGGGCAACTCTTCCACC	132
Hu.DMD.Exón47.25.008	TTTAATTGTTTGAGAATTCCTGGC	133
Hu.DMD.Exón47.25.008.2	TTGTTTGAGAATTCCTGGCGCAGG	134
Hu.DMD.Exón47.25.009	GCACGGTCCCTCCAGTTTCATTTAA	135
Hu.DMD.Exón47.25.009.2	TCCAGTTTCATTTAATTGTTTGAGA	136
Hu.DMD.Exón47.25.010	GCTTATGGGAGCACTTACAAGCACG	137
Hu.DMD.Exón47.25.010.2	TACAAGCACGGTCTCCAGTTTCA	138
Hu.DMD.Exón47.25.011	AGTTTATCTTGCTCTTCTGGGCTTA	139
Hu.DMD.Exón47.25.012	TCTGCTTGAGCTTATTTTCAAGTTT	140
Hu.DMD.Exón47.25.012.2	ATCTTGCTCTTCTGGGCTTATGGGA	141
Hu.DMD.Exón47.25.013	CTTTATCCACTGGAGATTTGTCTGC	142
Hu.DMD.Exón47.25.013.2	CTTATTTTCAAGTTTATCTTGCTCT	143
Hu.DMD.Exón47.25.014	CTAACCTTTTCCACTGGAGATTTG	144
Hu.DMD.Exón47.25.014.2	ATTTGTCTGCTTGAGCTTATTTTCA	145
Hu.DMD.Exón47.25.015	AATGTCTAACCTTTTATCCACTGGAG	146
Hu.DMD.Exón47.25.016	TGGTTAATGTCTAACCTTTATCCAC	147

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón47.25.017	AGAGATGGTTAATGTCTAACCTTTA	148
Hu.DMD.Exón47.25.018	ACGGAAGAGATGGTTAATGTCTAAC	149
Hu.DMD.Exón47.20.001	ACAGACAAATGCAACAACGT	150
Hu.DMD.Exón47.20.002	CTGAAACAGACAAATGCAAC	151
Hu.DMD.Exón47.20.003	AGTAACTGAAACAGACAAAT	152
Hu.DMD.Exón47.20.004	CCACCAGTAACTGAAACAGA	153
Hu.DMD.Exón47.20.005	CTCTCCACCAGTAACTGAA	154
Hu.DMD.Exón47.20.006	GGCAACTCTTCCACCAGTAA	155
Hu.DMD.Exón47.20.007	CTGGCGCAGGGGCAACTCTT	156
Hu.DMD.Exón47.20.008	TTGTTTGAGAATTCCTGGC	157
Hu.DMD.Exón47.20.009	TCCAGTTTCATTTAATTGTT	158
Hu.DMD.Exón47.20.010	TACAAGCACGGTCTCTCCAG	159
Hu.DMD.Exón47.20.011	GCTTATGGGAGCACTTACAA	160
Hu.DMD.Exón47.20.012	ATCTTGCTCTTCTGGGCTTA	161
Hu.DMD.Exón47.20.013	CTTATTTTCAAGTTTATCTT	162
Hu.DMD.Exón47.20.014	ATTTGTCTGCTTGAGCTTAT	163
Hu.DMD.Exón47.20.015	CTTTATCCACTGGAGATTTG	164
Hu.DMD.Exón47.20.016	CTAACCTTTATCCACTGGAG	165
Hu.DMD.Exón47.20.017	AATGTCTAACCTTTATCCAC	166
Hu.DMD.Exón47.20.018	TGGTTAATGCTAACCTTTA	167
Hu.DMD.Exón47.20.019	AGAGATGGTTAATGTCTAAC	168
Hu.DMD.Exón47.20.020	ACGGAAGAGATGGTTAATGT	169
Hu.DMD.Exón48.25.001	CTGAAAGGAAAATACATTTTAAAA	170
Hu.DMD.Exón48.25.002	CCTGAAAGGAAAATACATTTTAAAA	171
Hu.DMD.Exón48.25.002.2	GAAACCTGAAAGGAAAATACATTTT	172
Hu.DMD.Exón48.25.003	GGAAACCTGAAAGGAAAATACATTT	173
Hu.DMD.Exón48.25.003.2	CTCTGGAAACCTGAAAGGAAAATAC	174
Hu.DMD.Exón48.25.004	GCTCTGGAAACCTGAAAGGAAAATA	175
Hu.DMD.Exón48.25.004.2	TAAAGCTCTGGAAACCTGAAAGGAA	634
Hu.DMD.Exón48.25.005	GTAAGCTCTGGAAACCTGAAAGGA	176
Hu.DMD.Exón48.25.005.2	TCAGGTAAAGCTCTGGAAACCTGAA	177
Hu.DMD.Exón48.25.006	CTCAGGTAAAGCTCTGGAAACCTGA	178
Hu.DMD.Exón48.25.006.2	GTTTCTCAGGTAAAGCTCTGGAAAC	179
Hu.DMD.Exón48.25.007	TGTTTCTCAGGTAAAGCTCTGGAAA	180
Hu.DMD.Exón48.25.007.2	AATTTCTCCTTGTTTCTCAGGTAAA	181
Hu.DMD.Exón48.25.008	TTTGAGCTTCAATTTCTCCTTGTTT	182
Hu.DMD.Exón48.25.008	TTTTATTTGAGCTTCAATTTCTCCT	183
Hu.DMD.Exón48.25.009	AAGCTGCCCAAGGTCTTTTATTTGA	184
Hu.DMD.Exón48.25.010	AGGTCTTCAAGCTTTTTTCAAGCT	185
Hu.DMD.Exón48.25.010.2	TTCAAGCTTTTTTCAAGCTGCCCA	186
Hu.DMD.Exón48.25.011	GATGATTTAACTGCTCTTCAAGGTC	187
Hu.DMD.Exón48.25.011.2	CTGCTCTTCAAGGTCTTCAAGCTTT	188
Hu.DMD.Exón48.25.012	AGGAGATAACCACAGCAGCAGATGA	189
Hu.DMD.Exón48.25.012.2	CAGCAGATGATTTAACTGCTCTTCA	190
Hu.DMD.Exón48.25.013	ATTTCCAACCTGATTCCTAATAGGAG	191
Hu.DMD.Exón48.25.014	CTTGGTTTTGGTTGGTTATAAATTTT	192
Hu.DMD.Exón48.25.014.2	CAACTGATTCCTAATAGGAGATAAC	193
Hu.DMD.Exón48.25.015	CTTAACGTCAAATGGTCCTTCTTGG	194
Hu.DMD.Exón48.25.015.2	TTGGTTATAAATTTCCAACCTGATTC	195
Hu.DMD.Exón48.25.016	CCTACCTTAACGTCAAATGGTCCTT	196
Hu.DMD.Exón48.25.016.2	TCCTTCTTGGTTGGTTGTTATAA	197
Hu.DMD.Exón48.25.017	AGTTCCCTACCTTAACGTCAAATGG	198
Hu.DMD.Exón48.25.018	CAAAAAGTTCCCTACCTTAACGTCA	199
Hu.DMD.Exón48.25.019	TAAAGCAAAAAGTTCCCTACCTTAA	200
Hu.DMD.Exón48.25.020	ATATTTAAAGCAAAAAGTTCCCTAC	201
Hu.DMD.Exón48.20.001	AGGAAAATACATTTTAAAA	202
Hu.DMD.Exón48.20.002	AAGGAAAATACATTTTAAAA	203
Hu.DMD.Exón48.20.003	CCTGAAAGGAAAATACATTT	204
Hu.DMD.Exón48.20.004	GGAAACCTGAAAGGAAAATA	205
Hu.DMD.Exón48.20.005	GCTCTGGAAACCTGAAAGGA	206
Hu.DMD.Exón48.20.006	GTAAGCTCTGGAAACCTGA	207
Hu.DMD.Exón48.20.007	CTCAGGTAAAGCTCTGGAAA	208
Hu.DMD.Exón48.20.008	AATTTCTCCTTGTTTCTCAG	209

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón48.20.009	TTTTATTTGAGCTTCAATTT	210
Hu.DMD.Exón48.20.010	AAGCTGCCCAAGGTCTTTTA	211
Hu.DMD.Exón48.20.011	TTCAAGCTTTTTTTCAAGCT	212
Hu.DMD.Exón48.20.012	CTGCTCTTCAAGGTCTTCAA	213
Hu.DMD.Exón48.20.013	CAGCAGATGATTTAACTGCT	214
Hu.DMD.Exón48.20.014	AGGAGATAACCACAGCAGCA	215
Hu.DMD.Exón48.20.015	CAACTGATTCCTAATAGGAG	216
Hu.DMD.Exón48.20.016	TTGGTTATAAAATTTCCAAC	217
Hu.DMD.Exón48.20.017	TCCTTCTTGGTTTGGTTGGT	218
Hu.DMD.Exón48.20.018	CTTAACGTCAAATGGTCCTT	219
Hu.DMD.Exón48.20.019	CCTACCTTAACGTCAAATGG	220
Hu.DMD.Exón48.20.020	AGTTCCTACCTTAACGTCA	221
Hu.DMD.Exón48.20.021	CAAAAAGTTCCTACCTTAA	222
Hu.DMD.Exón48.20.022	TAAAGCAAAAAGTTCCTAC	223
Hu.DMD.Exón48.20.023	ATATTTAAAGCAAAAAGTTC	224
Hu.DMD.Exón49.25.001	CTGGGGAAAAGAACCATATAGTGC	225
Hu.DMD.Exón49.25.002	TCCTGGGGAAAAGAACCATATAGT	226
Hu.DMD.Exón49.25.002.2	GTTTCCTGGGGAAAAGAACCATAT	227
Hu.DMD.Exón49.25.003	CAGTTTCCTGGGGAAAAGAACCAT	228
Hu.DMD.Exón49.25.003.2	TTTCAGTTTCCTGGGGAAAAGAACC	229
Hu.DMD.Exón49.25.004	TATTTTCAGTTTCCTGGGGAAAAGAA	230
Hu.DMD.Exón49.25.004.2	TGCTATTTTCAGTTTCCTGGGGAAA	231
Hu.DMD.Exón49.25.005	ACTGCTATTTTCAGTTTCCTGGGGAA	232
Hu.DMD.Exón49.25.005.2	TGAACTGCTATTTTCAGTTTCCTGGG	233
Hu.DMD.Exón49.25.006	CTTGAAGTCTATTTTCAGTTTCCTG	234
Hu.DMD.Exón49.25.006.2	TAGCTTGAAGTCTATTTTCAGTTTC	235
Hu.DMD.Exón49.25.007	TTTAGCTTGAAGTCTATTTTCAGTT	236
Hu.DMD.Exón49.25.008	TTCCACATCCGGTTGTTTAGCTTGA	237
Hu.DMD.Exón49.25.009	TGCCCTTTAGACAAAATCTCTTCCA	238
Hu.DMD.Exón49.25.009.2	TTTAGACAAAATCTCTTCCACATCC	239
Hu.DMD.Exón49.25.010	GTTTTTCCTTGTACAAATGCTGCC	240
Hu.DMD.Exón49.25.010.2	GTACAAATGCTGCCCTTTAGACAAA	241
Hu.DMD.Exón49.25.011	CTTCACTGGCTGAGTGGCTGGTTTT	242
Hu.DMD.Exón49.25.011.2	GGCTGGTTTTTTCCTTGTACAAATGC	243
Hu.DMD.Exón49.25.012	ATTACCTTCACTGGCTGAGTGGCTG	244
Hu.DMD.Exón49.25.013	GCTTCATTACCTTCACTGGCTGAGT	245
Hu.DMD.Exón49.25.014	AGGTTGCTTCATTACCTTCACTGGC	246
Hu.DMD.Exón49.25.015	GCTAGAGGTTGCTTCATTACCTTCA	247
Hu.DMD.Exón49.25.016	ATATTGCTAGAGGTTGCTTCATTAC	248
Hu.DMD.Exón49.20.001	GAAAAGAACCATATAGTGC	249
Hu.DMD.Exón49.20.002	GGGAAAAGAACCATATAGT	250
Hu.DMD.Exón49.20.003	TCCTGGGGAAAAGAACCAT	251
Hu.DMD.Exón49.20.004	CAGTTTCCTGGGGAAAAGAA	252
Hu.DMD.Exón49.20.005	TATTTTCAGTTTCCTGGGGAA	253
Hu.DMD.Exón49.20.006	ACTGCTATTTTCAGTTTCCTG	254
Hu.DMD.Exón49.20.007	CTTGAAGTCTATTTTCAGTT	255
Hu.DMD.Exón49.20.008	TTTAGCTTGAAGTCTATTT	256
Hu.DMD.Exón49.20.009	TTCCACATCCGGTTGTTTAG	257
Hu.DMD.Exón49.20.010	TTTAGACAAAATCTCTTCCA	258
Hu.DMD.Exón49.20.011	GTACAAATGCTGCCCTTTAG	259
Hu.DMD.Exón49.20.012	GGCTGG TTTTTCCTTGTACA	260
Hu.DMD.Exón49.20.013	CTTCACTGGCTGAGTGGCTG	261
Hu.DMD.Exón49.20.014	ATTACCTTCACTGGCTGAGT	262
Hu.DMD.Exón49.20.015	GCTTCATTACCTTCACTGGC	263
Hu.DMD.Exón49.20.016	AGGTTGCTTCATTACCTTCA	264
Hu.DMD.Exón49.20.017	GCTAGAGGTTGCTTCATTAC	265
Hu.DMD.Exón49.20.018	ATATTGCTAGAGGTTGCTTC	266
Hu.DMD.Exón50.25.001	CTTTAACAGAAAAGCATAACATTA	267
Hu.DMD.Exón50.25.002	TCCTCTTTAACAGAAAAGCATAAC	268
Hu.DMD.Exón50.25.002.2	TTCTCTTTAACAGAAAAGCATAACA	269
Hu.DMD.Exón50.25.003	TAACTTCTCTTTAACAGAAAAGCA	270
Hu.DMD.Exón50.25.003.2	CTAACTTCTCTTTAACAGAAAAGC	271
Hu.DMD.Exón50.25.004	TCTTCTAACTTCTCTTTAACAGAA	272

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón50.25.004.2	ATCTTCTAACTTCCTCTTTAACAGA	273
Hu.DMD.Exón50.25.005	TCAGATCTTCTAACTTCCTCTTTAA	274
Hu.DMD.Exón50.25.005.2	CTCAGATCTTCTAACTTCCTCTTTA	275
Hu.DMD.Exón50.25.006	AGAGCTCAGATCTTCTAACTTCCTC	276
Hu.DMD.Exón50.25.006.2 NG-08-0731	CAGAGCTCAGATCTTCTAACTTCCT	277
Hu.DMD.Exón50.25.007	CACTCAGAGCTCAGATCTTCTACT	278
Hu.DMD.Exón50.25.007.2	CCTTCCACTCAGAGCTCAGATCTTC	279
Hu.DMD.Exón50.25.008	GTAACCGGTTTACCGCCTTCCACTC	280
Hu.DMD.Exón50.25.009	CTTTGCCCTCAGCTCTTGAAGTAAA	281
Hu.DMD.Exón50.25*009.2	CCCTCAGCTCTTGAAGTAAACGGTT	282
Hu.DMD.Exón50.25.010	CCAGGAGCTAGGTCAGGCTGCTTTG	283
Hu.DMD.Exón50.25.010.2	GGTCAGGCTGCTTTGCCCTCAGCTC	284
Hu.DMD.Exón50.25.011	AGGCTCCAATAGTGGTCAGTCCAGG	285
Hu.DMD.Exón50.25.011.2	TCAGTCCAGGAGCTAGGTCAGGCTG	286
Hu.DMD.Exón50.25.012 AVI-5038	CTTACAGGCTCCAATAGTGGTCAGT	287
Hu.DMD.Exón50.25.013	GTATACTTACAGGCTCCAATAGTGG	288
Hu.DMD.Exón50.25.014	ATCCAGTATACTTACAGGCTCCAAT	289
Hu.DMD.Exón50.25.015 NG-08-0741	ATGGGATCCAGTATACTTACAGGCT	290
Hu.DMD.Exón50.25.016 NG-08-0742	AGAGAATGGGATCCAGTATACTTAC	291
Hu.DMD.Exón50.20.001	ACAGAAAAGCATAACACATTA	292
Hu.DMD.Exón50.20.002	TTTAAACAGAAAAGCATAACAC	293
Hu.DMD.Exón50.20.003	TCCTCTTTAACAGAAAAGCA	294
Hu.DMD.Exón50.20.004	TAACCTCCTCTTTAACAGAA	295
Hu.DMD.Exón50.20.005	TCTTCTAACTTCCTCTTTAA	296
Hu.DMD.Exón50.20.006	TCAGATCTTCTAACTTCCTC	297
Hu.DMD.Exón50.20.007	CCTTCCACTCAGAGCTCAGA	298
Hu.DMD.Exón50.20.008	GTAACCGGTTTACCGCCTTC	299
Hu.DMD.Exón50.20.009	CCCTCAGCTCTTGAAGTAAA	300
Hu.DMD.Exón50.20.010	GGTCAGGCTGCTTTGCCCTC	301
Hu.DMD.Exón50.20.011	TCAGTCCAGGAGCTAGGTCA	302
Hu.DMD.Exón50.20.012	AGGCTCCAATAGTGGTCAGT	303
Hu.DMD.Exón50.20.013	CTTACAGGCTCCAATAGTGG	304
Hu.DMD.Exón50.20.014	GTATACTTACAGGCTCCAAT	305
Hu.DMD.Exón50.20.015	ATCCAGTATACTTACAGGCT	306
Hu.DMD.Exón50.20.016	ATGGGATCCAGTATACTTAC	307
Hu.DMD.Exón50.20.017	AGAGAATGGGATCCAGTATA	308
Hu.DMD.Exón51.25.001-44	CTAAAATATTTGGGTTTTTGCAAAA	309
Hu.DMD.Exón51.25.002-45	GCTAAAATATTTGGGTTTTGCAAA	310
Hu.DMD.Exón51.25.002.2-46	TAGGAGCTAAAATATTTGGG TTTT	311
Hu.DMD.Exón51.25.003	AGTAGGAGCTAAAATATTTGGGTT	312
Hu.DMD.Exón51.25.003.2	TGAGTAGGAGCTAAAATATTTGGG	313
Hu.DMD.Exón51.25.004	CTGAGTAGGAGCTAAAATATTTGG G	314
Hu.DMD.Exón51.25.004.2	CAGTCTGAGTAGGAGCTAAAATATT	315
Hu.DMD.Exón51.25.005	ACAGTCTGAGTAGGAGCTAAAATATT	316
Hu.DMD.Exón51.25.005.2	GAGTAACAGTCTGAGTAGGAGCTAA A	317
Hu.DMD.Exón51.25.006	CAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAGCT	318
Hu.DMD.Exón51.25.006. 2	CACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGA G	319
Hu.DMD.Exón51.25.007	GTCACCAGAGTAACAGTCTGAGTAG	320

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón51.25.007.2	AACCACAGGTTGTGTCACCAGAGTA A	321
Hu.DMD.Exón51.25.008	GTTGTGTCACCAGAGTAACAGTCTG	322
Hu.DMD.Exón51.25.009	TGGCAGTTTCCTTAGTAACCACAGG T	323
Hu.DMD.Exón51.25.010	ATTTCTAGTTTGGAGATGGCAGTTTC	324
Hu.DMD.Exón51.25.010.2	GGAAGATGGCATTCTAGTTTGGAG	325
Hu.DMD.Exón51.25.011	CATCAAGGAAGATGGCATTCTAGTT	326
Hu.DMD.Exón51.25.011.2	GAGCAGGTACCTCCAACATCAAGGA A	327
Hu.DMD.Exón51.25.012	ATCTGCCAGAGCAGGTACCTCCAAC	328
Hu.DMD.Exón51.25.013	AAGTTCTGTCCAAGCCCGGTTGAAA  T	329
Hu.DMD.Exón51.25.013.2	CGGTTGAAATCTGCCAGAGCAGGTA C	330
Hu.DMD.Exón51.25.014	GAGAAAGCCAGTCGGTAAGTTCTGT C	331
Hu.DMD.Exón51.25.014.2	GTCGGTAAGTTCTGTCCAAGCCCGG	332
Hu.DMD.Exón51.25.015	ATAACTTGATCAAGCAGAGAAAGCC A	333
Hu.DMD.Exón51.25.015.2	AAGCAGAGAAAGCCAGTCGGTAAGT	334
Hu.DMD.Exón51.25.016	CACCCTCTGTGATTTTATAACTTGAT	335
Hu.DMD.Exón51.25.017	CAAGGTCACCCACCATCACCCCTCTG T	336
Hu.DMD.Exón51.25.017.2	CATCACCCCTCTGTGATTTTATAACT	337
Hu.DMD.Exón51.25.018	CTTCTGCTTGATGATCATCTCGTTGA	338
Hu.DMD.Exón51.25.019	CCTTCTGCTTGATGATCATCTCGTTG	339
Hu.DMD.Exón51.25.019.2	ATCTCGTTGATATCCTCAAGGTCACC	340
Hu.DMD.Exón51.25.020	TCATACCTTCTGCTTGATGATCATCT	341
Hu.DMD.Exón51.25.020.2	TCATTTTTTCTCATACCTTCTGCTTG	342
Hu.DMD.Exón51.25.021	TTTTCTCATACCTTCTGCTTGATGAT	343
Hu.DMD.Exón51.25.022	TTTTATCATTTTTTCTCATACCTTCT	344
Hu.DMD.Exón51.25.023	CCAACTTTTATCATTTTTTCTCATAC	345
Hu.DMD.Exón51.20.001	ATATTTTGGGTTTTTGCAA	346
Hu.DMD.Exón51.20.002	AAAATTTTTGGGTTTTGC	347
Hu.DMD.Exón51.20.003	GAGCTAAAATTTTTGGGTT	348
Hu.DMD.Exón51.20.004	AGTAGGAGCTAAAATATTTT	349
Hu.DMD.Exón51.20.005	GTCTGAGTAGGAGCTAAAAT	350
Hu.DMD.Exón51.20.006	TAACAGTCTGAGTAGGAGCT	351
Hu.DMD.Exón51.20.007	CAGAGTAACAGTCTGAGTAG	352
Hu.DMD.Exón51.20.008	CACAGGTTGTGTCACCAGAG	353

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón51.20.009	AGTTTCCTTAGTAACCACAG	354
Hu.DMD.Exón51.20.010	TAGTTTGGAGATGGCAGTTT	355
Hu.DMD.Exón51.20.011	GGAAGATGGCATTCTAGTT	356
Hu.DMD.Exón51.20.012	TACCTCCAACATCAAGGAAG	357
Hu.DMD.Exón51.20.013	ATCTGCCAGAGCAGGTACCT	358
Hu.DMD.Exón51.20.014	CCAAGCCCGGTTGAAATCTG	359
Hu.DMD.Exón51.20.015	GTCCGGTAAGTTCTGTCCAAG	360
Hu.DMD.Exón51.20.016	AAGCAGAGAAAGCCAGTCGG	361
Hu.DMD.Exón51.20.017	TTTATAACTTGATCAAGCA	362
Hu.DMD.Exón51.20.018	CATCACCTCTGTGATTTTA	363
Hu.DMD.Exón51.20.019	CTCAAGGTCACCCACCATCA	364
Hu.DMD.Exón51.20.020	CATCTCGTTGATATCCTCAA	365
Hu.DMD.Exón51.20.021	CTTCTGCTTGATGATCATCT	366
Hu.DMD.Exón51.20.022	CATACCTTCTGCTTGATGAT	367
Hu.DMD.Exón51.20.023	TTTCTCATACCTTCTGCTTG	368
Hu.DMD.Exón51.20.024	CATTTTTTCTCATACCTTCT	369
Hu.DMD.Exón51.20.025	TTTATCATTTTTTCTCATAC	370
Hu.DMD.Exón51.20.026	CAACTTTTATCATTTTTTCT	371
Hu.DMD.Exón52.25.001	CTGTAAGAACAATATCCCTTAGTA	372
Hu.DMD.Exón52.25.002	TGCCTGTAAGAACAATATCCCTTA	373
Hu.DMD.Exón52.25.002.2	GTTGCCTGTAAGAACAATATCCCT	374
Hu.DMD.Exón52.25.003	ATTGTTGCCTGTAAGAACAATATC	375
Hu.DMD.Exón52.25.003.2	GCATTGTTGCCTGTAAGAACAATA	376
Hu.DMD.Exón52.25.004	CCTGCATTGTTGCCTGTAAGAACAA	377
Hu.DMD.Exón52.25.004.2	ATCCTGCATTGTTGCCTGTAAGAAC	378
Hu.DMD.Exón52.25.005	CAAATCCTGCATTGTTGCCTGTAAG	379
Hu.DMD.Exón52.25.005.2	TCCAAATCCTGCATTGTTGCCTGTA	380
Hu.DMD.Exón52.25.006	TGTTCCAAATCCTGCATTGTTGCCT	381
Hu.DMD.Exón52.25.006.2	TCTGTTCCAAATCCTGCATTGTTGC	382
Hu.DMD.Exón52.25.007	AACTGGGGACGCCTCTGTTCCAAAT	383
Hu.DMD.Exón52.25.007.2	GCCTCTGTTCCAAATCCTGCATTGT	384
Hu.DMD.Exón52.25.008	CAGCGGTAATGAGTTCTTCCAACCTG	385
Hu.DMD.Exón52.25.008.2	CTTCCAACCTGGGGACGCCTCTGTTC	386
Hu.DMD.Exón52.25.009	CTTGTTTTTCAAATTTTGGGCAGCG	387
Hu.DMD.Exón52.25.010	CTAGCCTCTTGATTGCTGGTCTTGT	388
Hu.DMD.Exón52.25.010.2	TTTTCAAATTTTGGGCAGCGGTAAT	389
Hu.DMD.Exón52.25.011	TTCGATCCGTAATGATTGTTCTAGC	390
Hu.DMD.Exón52.25.011.2	GATTGCTGGTCTTGTTTTTCAAATT	391
Hu.DMD.Exón52.25.012	CTTACTTCGATCCGTAATGATTGTT	392
Hu.DMD.Exón52.25.012.2	TGTTCTAGCCTCTTGATTGCTGGT	393
Hu.DMD.Exón52.25.013	AAAAACTTACTTTCGATCCGTAATGA	394
Hu.DMD.Exón52.25.014	TGTTAAAAAACTTACTTTCGATCCGT	395
Hu.DMD.Exón52.25.015	ATGCTTGTTAAAAAACTTACTTTCGA	396
Hu.DMD.Exón52.25.016	GTCCCATGCTTGTTAAAAAACTTAC	397
Hu.DMD.Exón52.20.001	AGAACAATATCCCTTAGTA	398
Hu.DMD.Exón52.20.002	GTAAGAACAATATCCCTTA	399
Hu.DMD.Exón52.20.003	TGCCTGTAAGAACAATATC	400
Hu.DMD.Exón52.20.004	ATTGTTGCCTGTAAGAACAA	401
Hu.DMD.Exón52.20.005	CCTGCATTGTTGCCTGTAAG	402
Hu.DMD.Exón52.20.006	CAAATCCTGCATTGTTGCCT	403
Hu.DMD.Exón52.20.007	GCCTCTGTTCCAAATCCTGC	404
Hu.DMD.Exón52.20.008	CTTCCAACCTGGGGACGCCTC	405
Hu.DMD.Exón52.20.009	CAGCGGTAATGAGTTCTTCC	406
Hu.DMD.Exón52.20.010	TTTTCAAATTTTGGGCAGCG	407
Hu.DMD.Exón52.20.011	GATTGCTGGTCTTGTTTTTC	408
Hu.DMD.Exón52.20.012	TGTTCTAGCCTCTTGATTG	409
Hu.DMD.Exón52.20.013	TTCGATCCGTAATGATTGTT	410
Hu.DMD.Exón52.20.014	CTTACTTCGATCCGTAATGA	411
Hu.DMD.Exón52.20.015	AAAACTTACTTTCGATCCGT	412
Hu.DMD.Exón52.20.016	TGTTAAAAAACTTACTTTCGA	413
Hu.DMD.Exón52.20.017	ATGCTTGTTAAAAAACTTAC	414
Hu.DMD.Exón52.20.018	GTCCCATGCTTGTTAAAAAA	415
Hu.DMD.Exón53.25.001	CTAGAATAAAAGGAAAAATAAATAT	416

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón53.25.002	AACTAGAATAAAAGGAAAAATAAAT	417
Hu.DMD.Exón53.25.002.2	TTCAACTAGAATAAAAGGAAAAATA	418
Hu.DMD.Exón53.25.003	CTTTCAACTAGAATAAAAGGAAAA	419
Hu.DMD.Exón53.25.003.2	ATTCTTTCAACTAGAATAAAAGGAA	420
Hu.DMD.Exón53.25.004	GAATTCTTTCAACTAGAATAAAAGG	421
Hu.DMD.Exón53.25.004.2	TCTGAATTCTTTCAACTAGAATAAA	422
Hu.DMD.Exón53.25.005	ATTCTGAATTCTTTCAACTAGAATA	423
Hu.DMD.Exón53.25.005.2	CTGATTCTGAATTCTTTCAACTAGA	424
Hu.DMD.Exón53.25.006	CACTGATTCTGAATTCTTTCAACTA	425
Hu.DMD.Exón53.25.006.2	TCCCCTGATTCTGAATTCTTTCAA	426
Hu.DMD.Exón53.25.007	CATCCCCTGATTCTGAATTCTTTTC	427
Hu.DMD.Exón53.25.008	TACTTCATCCCCTGATTCTGAATT	428
Hu.DMD.Exón53.25.008.2	CTGAAGGTGTTCTTGACTTCATCC	429
Hu.DMD.Exón53.25.009	CGGTTCTGAAGGTGTTCTTGACT	430
Hu.DMD.Exón53.25.009.2	CTGTTGCCTCCGGTTCTGAAGGTGT	431
Hu.DMD.Exón53.25.010	TTTCATTCAACTGTTGCCTCCGGTT	432
Hu.DMD.Exón53.25.010.2	TAACATTTCAATTCAACTGTTGCCTC	433
Hu.DMD.Exón53.25.011	TTGTGTTGAATCCTTTAACATTTCA	434
Hu.DMD.Exón53.25.012	TCTTCCTTAGCTCCAGCCATTGTG	435
Hu.DMD.Exón53.25.012.2	CTTAGCTTCCAGCCATTGTGTTGAA	436
Hu.DMD.Exón53.25.013	GTCCTAAGACCTGCTCAGCTTCTTC	437
Hu.DMD.Exón53.25.013.2	CTGCTCAGCTTCTTCTTAGCTTCC	438
Hu.DMD.Exón53.25.014	CTCAAGCTTGGCTCTGGCCTGTCCT	439
Hu.DMD.Exón53.25.014.2	GGCCTGTCTAAGACCTGCTCAGCT	440
Hu.DMD.Exón53.25.015	TAGGGACCCTCCTCCATGACTCAA	441
Hu.DMD.Exón53.25.016	TTTGGATTGCATCTACTGTATAGGG	442
Hu.DMD.Exón53.25.016.2	ACCCTCCTCCATGACTCAAGCTTG	443
Hu.DMD.Exón53.25.017	CTTGGTTTCTGTGATTTTCTTTGG	444
Hu.DMD.Exón53.25.017.2	ATCTACTGTATAGGGACCCTCCTTC	445
Hu.DMD.Exón53.25.018	CTAACCTTGGTTTCTGTGATTTTCT	446
Hu.DMD.Exón53.25.018.2	TTTCTTTTGGATTGCATCTACTGTA	447
Hu.DMD.Exón53.25.019	TGATACTAACCTTGGTTTCTGTGAT	448
Hu.DMD.Exón53.25.020	ATCTTTGATACTAACCTTGGTTTCT	449
Hu.DMD.Exón53.25.021	AAGGTATCTTTGATACTAACCTTGG	450
Hu.DMD.Exón53.25.022	TTAAAAAGGTATCTTTGATACTAAC	451
Hu.DMD.Exón53.20.001	ATAAAAAGGAAAAATAAATAT	452
Hu.DMD.Exón53.20.002	GAATAAAAAGGAAAAATAAAT	453
Hu.DMD.Exón53.20.003	AACTAGAATAAAAGGAAAA	454
Hu.DMD.Exón53.20.004	CTTTCAACTAGAATAAAAGG	455
Hu.DMD.Exón53.20.005	GAATTCTTTCAACTAGAATA	456
Hu.DMD.Exón53.20.006	ATTCTGAATTCTTTCAACTA	457
Hu.DMD.Exón53.20.007	TACTTCATCCCCTGATTCT	458
Hu.DMD.Exón53.20.008	CTGAAGGTGTTCTTGACT	459
Hu.DMD.Exón53.20.009	CTGTTGCCTCCGGTTCTGAA	460
Hu.DMD.Exón53.20.010	TAACATTTCAATTCAACTGTT	461
Hu.DMD.Exón53.20.011	TTGTGTTGAATCCTTTAACA	462
Hu.DMD.Exón53.20.012	CTTAGCTTCCAGCCATTGTG	463
Hu.DMD.Exón53.20.013	CTGCTCAGCTTCTTCTTAG	464
Hu.DMD.Exón53.20.014	GGCCTGTCTAAGACCTGCT	465
Hu.DMD.Exón53.20.015	CTCAAGCTTGGCTCTGGCCT	466
Hu.DMD.Exón53.20.016	ACCCTCCTCCATGACTCAA	467
Hu.DMD.Exón53.20.017	ATCTACTGTATAGGGACCCT	468
Hu.DMD.Exón53.20.018	TTTCTTTTGGATTGCATCTA	469
Hu.DMD.Exón53.20.019	CTTGGTTTCTGTGATTTTCT	470
Hu.DMD.Exón53.20.020	CTAACCTTGGTTTCTGTGAT	471
Hu.DMD.Exón53.20.021	TGATACTAACCTTGGTTTCT	472
Hu.DMD.Exón53.20.022	ATCTTTGATACTAACCTTGG	473
Hu.DMD.Exón53.20.023	AAGGTATCTTTGATACTAAC	474
Hu.DMD.Exón53.20.024	TTAAAAAGGTATCTTTGATA	475
Hu.DMD.Exón54.25.001	CTATAGATTTTATGAGAAAAGAGA	476
Hu.DMD.Exón54.25.002	AACTGCTATAGATTTTATGAGAAA	477
Hu.DMD.Exón54.25.003	TGGCCAAGTCTATAGATTTTATG	478
Hu.DMD.Exón54.25.004	GTCTTTGGCCAAGTCTATAGATTT	479

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón54.25.005	CGGAGGTCTTTGGCCAAGTCTATA	480
Hu.DMD.Exón54.25.006	ACTGGCGGAGGTCTTTGGCCAAGTCT	481
Hu.DMD.Exón54.25.007	TTTGTCTGCCACTGGCGGAGGTCTT	482
Hu.DMD.Exón54.25.008	AGTCATTTGCCACATCTACATTTGT	483
Hu.DMD.Exón54.25.008.2	TTTGCCACATCTACATTTGTCTGCC	484
Hu.DMD.Exón54.25.009	CCGGAGAAGTTTCAGGGCCAAGTCA	485
Hu.DMD.Exón54.25.010	GTATCATCTGCAGAATAATCCCGGA	486
Hu.DMD.Exón54.25.010.2	TAATCCCGGAGAAGTTTCAGGGCCA	487
Hu.DMD.Exón54.25.011	TTATCATGTGGACTTTTCTGGTATC	488
Hu.DMD.Exón54.25.012	AGAGGCATTGATATTCTCTGTTATC	489
Hu.DMD.Exón54.25.012.2	ATGTGGACTTTTCTGGTATCATCTG	490
Hu.DMD.Exón54.25.013	CTTTTATGAATGCTTCTCCAAGAGG	491
Hu.DMD.Exón54.25.013.2	ATATTCTCTGTTATCATGTGGACTT	492
Hu.DMD.Exón54.25.014	CATACCTTTTATGAATGCTTCTCCA	493
Hu.DMD.Exón54.25.014.2	CTCCAAGAGGCATTGATATTCTCTG	494
Hu.DMD.Exón54.25.015	TAATTCATACCTTTTATGAATGCTT	495
Hu.DMD.Exón54.25.015.2	CTTTTATGAATGCTTCTCCAAGAGG	496
Hu.DMD.Exón54.25.016	TAATGTAATTCATACCTTTTATGAA	497
Hu.DMD.Exón54.25.017	AGAAATAATGTAATTCATACCTTTT	498
Hu.DMD.Exón54.25.018	GTTTTAGAAATAATGTAATTCATAC	499
Hu.DMD.Exón54.20.001	GATTTTTATGAGAAAGAGA	500
Hu.DMD.Exón54.20.002	CTATAGATTTTTATGAGAAA	501
Hu.DMD.Exón54.20.003	AACTGCTATAGATTTTTATG	502
Hu.DMD.Exón54.20.004	TGGCCAAGTCTATAGATTT	503
Hu.DMD.Exón54.20.005	GTCTTTGGCCAAGTCTATA	504
Hu.DMD.Exón54.20.006	CGGAGGTCTTTGGCCAAGTCT	505
Hu.DMD.Exón54.20.007	TTTGTCTGCCACTGGCGGAG	506
Hu.DMD.Exón54.20.008	TTTGCCACATCTACATTTGT	507
Hu.DMD.Exón54.20.009	TTCAGGGCCAGATCATTTGC	508
Hu.DMD.Exón54.20.010	TAATCCCGGAGAAGTTTCAG	509
Hu.DMD.Exón54.20.011	GTATCATCTGCAGAATAATC	510
Hu.DMD.Exón54.20.012	ATGTGGACTTTTCTGGTATC	511
Hu.DMD.Exón54.20.013	ATATTCTCTGTTATCATGTG	512
Hu.DMD.Exón54.20.014	CTCCAAGAGGCATTGATATT	513
Hu.DMD.Exón54.20.015	CTTTTATGAATGCTTCTCCA	514
Hu.DMD.Exón54.20.016	CATACCTTTTATGAATGCTT	515
Hu.DMD.Exón54.20.017	TAATTCATACCTTTTATGAA	516
Hu.DMD.Exón54.20.018	TAATGTAATTCATACCTTTT	517
Hu.DMD.Exón54.20.019	AGAAATAATGTAATTCATAC	518
Hu.DMD.Exón54.20.020	GTTTTAGAAATAATGTAATT	519
Hu.DMD.Exón55.25.001	CTGCAAAGGACCAAATGTTTCAGATG	520
Hu.DMD.Exón55.25.002	TCACCCTGCAAAGGACCAAATGTTT	521
Hu.DMD.Exón55.25.003	CTCACTCACCCTGCAAAGGACCAA	522
Hu.DMD.Exón55.25.004	TCTCGCTCACTCACCCTGCAAAGGA	523
Hu.DMD.Exón55.25.005	CAGCCTCTCGCTCACTCACCCTGCA	524
Hu.DMD.Exón55.25.006	CAAAGCAGCCTCTCGCTCACTCACC	525
Hu.DMD.Exón55.25.007	TCTTCAAAGCAGCCTCTCGCTCAC	526
Hu.DMD.Exón55.25.007.2	TCTATGAGTTTCTTCAAAGCAGCC	527
Hu.DMD.Exón55.25.008	GTTGCAGTAATCTATGAGTTTCTTC	528
Hu.DMD.Exón55.25.008.2	GAAGTGTGCAGTAATCTATGAGTT	529
Hu.DMD.Exón55.25.009	TTCCAGGTCCAGGGGAAGTGTTC	530
Hu.DMD.Exón55.25.010	GTAAGCCAGGCAAGAACTTTTCCA	531
Hu.DMD.Exón55.25.010.2	CCAGGCAAGAACTTTTCCAGGTCC	532
Hu.DMD.Exón55.25.011	TGGCAGTTGTTTCAGCTTCTGTAAG	533
Hu.DMD.Exón55.25.011.2	TTCAGCTTCTGTAAGCCAGGCAAGA	635
Hu.DMD.Exón55.25.012	GGTAGCATCCTGTAGGACATTGGCA	534
Hu.DMD.Exón55.25.012.2	GACATTGGCAGTTGTTTCAGCTTCT	535
Hu.DMD.Exón55.25.013	TCTAGGAGCCTTTCTTACGGGTAG	536
Hu.DMD.Exón55.25.014	CTTTTACTCCCTTGGAGTCTTCTAG	537
Hu.DMD.Exón55.25.014.2	GAGCCTTTCTTACGGGTAGCATCC	538
Hu.DMD.Exón55.25.015	TTGCCATTGTTTCATCAGCTCTTTT	539
Hu.DMD.Exón55.25.015.2	CTTGGAGTCTTCTAGGAGCCTTTCC	540
Hu.DMD.Exón55.25.016	CTTACTTGCCATTGTTTCATCAGCT	541

ES 2 714 787 T3

Hu.DMD.Exón55.25.016.2	CAGCTCTTTTACTCCCTTGGAGTCT	542
Hu.DMD.Exón55.25.017	CCTGACTTACTTGCCATTGTTTCAT	543
Hu.DMD.Exón55.25.018	AAATGCCTGACTTACTTGCCATTGT	544
Hu.DMD.Exón55.25.019	AGCGGAAATGCCTGACTTACTTGCC	545
Hu.DMD.Exón55.25.020	GCTAAAGCGGAAATGCCTGACTTAC	546
Hu.DMD.Exón55.20.001	AAGGACCAAATGTTTCAGATG	547
Hu.DMD.Exón55.20.002	CTGCAAAGGACCAAATGTTTC	548
Hu.DMD.Exón55.20.003	TCACCCTGCAAAGGACCAAAA	549
Hu.DMD.Exón55.20.004	CTCACTCACCTGCAAAGGA	550
Hu.DMD.Exón55.20.005	TCTCGCTCACTCACCTGCA	551
Hu.DMD.Exón55.20.006	CAGCCTCTCGCTCACTCACC	552
Hu.DMD.Exón55.20.007	CAAAGCAGCCTCTCGCTCAC	553
Hu.DMD.Exón55.20.008	TCTATGAGTTTCTTCCAAAG	554
Hu.DMD.Exón55.20.009	GAAGTGTTCAGTAATCTAT	555
Hu.DMD.Exón55.20.010	TTCCAGGTCCAGGGGGAAGT	556
Hu.DMD.Exón55.20.011	CCAGGCAAGAAACTTTTCCA	557
Hu.DMD.Exón55.20.012	TTCAGCTTCTGTAAGCCAGG	558
Hu.DMD.Exón55.20.013	GACATTGGCAGTTGTTTCAG	559
Hu.DMD.Exón55.20.014	GGTAGCATCCTGTAGGACAT	560
Hu.DMD.Exón55.20.015	GAGCCTTTCCTTACGGGTAG	561
Hu.DMD.Exón55.20.016	CTTGGAGTCTTCTAGGAGCC	562
Hu.DMD.Exón55.20.017	CAGCTCTTTTACTCCCTTGG	563
Hu.DMD.Exón55.20.018	TTGCCATTGTTTCATCAGCT	564
Hu.DMD.Exón55.20.019	CTTACTTGCCATTGTTTCAT	565
Hu.DMD.Exón55.20.020	CCTGACTTACTTGCCATTGT	566
Hu.DMD.Exón55.20.021	AAATGCCTGACTTACTTGCC	567
Hu.DMD.Exón55.20.022	AGCGGAAATGCCTGACTTAC	568
Hu.DMD.Exón55.20.023	GCTAAAGCGGAAATGCCTGA	569
H50A(+02+30)-AVI-5656	CCACTCAGAGCTCAGATCTTCTAACT TCC	584
H50D(+07-18)-AVI-5915	GGGATCCAGTATACTTACAGGCTCC	585
H50A(+07+33)	CTTCCACTCAGAGCTCAGATCTTCTA A	586
H51A(+61+90)-AVI-4657	ACATCAAGGAAGATGGCATTCTAGT TTGG	587
H51A(+66+95)-AVI-4658	CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATT TCTAG	588
H51A(+111+134)	TTCTGTCCAAGCCCGGTTGAAATC	589
H51A(+175+195)	CACCCACCATCACCTCYGTG	590
H51A(+199+220)	ATCATCTCGTTGATATCCTCAA	591
H51A(+66+90)	ACATCAAGGAAGATGGCATTCTAG	592
H51A(-01+25)	ACCAGAGTAACAGTCTGAGTAGGAG C	593
h51AON1	TCAAGGAAGATGGCATTCT	594
h51AON2	CCTCTGTGATTTTATAACTTGAT	595
H51 D(+08-17)	ATCATTTTTTCTCATACCTTCTGCT	596
H51D(+16-07)	CTCATACCTTCTGCTTGATGATC	597
hAON#23	TGGCATTCTAGTTTGG	598
hAON#24	CCAGAGCAGGTACCTCCAACATC	599
H44A(+61 +84)	TGTTCACTTCTGTTAGCCACTGA	600

ES 2 714 787 T3

H44A(+85+104)	TTTGTGTCTTTCTGAGAAAC	601
h44AON1	CGCCGCCATTTCTCAACAG	602
H44A(-06+14)	ATCTGTCAAATCGCCTGCAG	603
H45A(+71 +90)	TGTTTTGAGGATTGCTGAA	604
h45AON1	GCTGAATTATTTCTTCCCC	605
h45AON5	GCCCAATGCCATCCTGG	606
H45A(-06+20)	CCAATGCCATCCTGGAGTTCCTGTA A	607
H53A(+39+69)	CATTCAACTGTTGCCTCCGGTTCTGA AGGTG	608
H53A(+23+47)	CTGAAGGTGTTCTTGTACTTCATCC	609
h53AON1	CTGTTGCCTCCGGTTCTG	610
H53A(-12+10)	ATTCTTTCAACTAGAAATAAAAG	611
huEx45.30.66	GCCATCCTGGAGTTCCTGTAAGATA CCAAA	612
huEx45.30.71	CCAATGCCATCCTGGAGTTCCTGTA AGATA	613
huEx45.30.79	GCCGCTGCCCAATGCCATCCTGGAG TTCCT	614
huEx45.30.83	GTTTGCCGCTGCCCAATGCCATCCT GGAGT	615
huEx45.30.88	CAACAGTTTGCCGCTGCCCAATGCC ATCCT	616
huEx45.30.92	CTGACAACAGTTTGCCGCTGCCCAA TGCCA	617
huEx45.30.96	TGTTCTGACAACAGTTTGCCGCTGC CCAAT	618
huEx45.30.99	CAATGTTCTGACAACAGTTTGCCGCT GCCC	619
huEx45.30.103	CATTCAATGTTCTGACAACAGTTTGC CGCT	620
huEx45.30.120	TATTTCTTCCCCAGTTGCATTCAATG TTCT	621
huEx45.30.127	GCTGAATTATTTCTTCCCCAGTTGCA TTCA	622

huEx45.30.132	GGATTGCTGAATTATTTCTTCCCCAG TTGC	623
huEx45.30.137	TTTGAGGATTGCTGAATTATTTCTTC CCCA	624
huEx53.30.84	GTA CTTCATCCC ACTGATTCTGAATT CTTT	625
huEx53.30.88	TCTTGTACTTCATCCC ACTGATTCTG AATT	626
huEx53.30.91	TGTTCTTGTACTTCATCCC ACTGATT CTGA	627
huEx53.30.103	CGGTTCTGAAGGTGTTCTTGTACTTC ATCC	628
huEx53.30.106	CTCCGGTTCTGAAGGTGTTCTTGTA CTTCA	629
huEx53.30.109	TGCCTCCGGTTCTGAAGGTGTTCTT GTACT	630
huEx53.30.112	TGTTGCCTCCGGTTCTGAAGGTGTT CTTGT	631
huEx53.30.115	AACTGTTGCCTCCGGTTCTGAAGGT GTTCT	632
huEx53.30.118	TTCAACTGTTGCCTCCGGTTCTGAA GGTGT	633
h50AON 1		
h50AON2		
Transportadores de péptidos (NH <sub>2</sub> a COOH)*:		
rTAT	RRRQRRKKRC	570
R <sub>9</sub> F <sub>2</sub>	RRRRRRRRRFFC	571
(RAhx) <sub>4</sub> B	RAhxRAhxRAhxRAhxRAhxB	572
(RAhxR) <sub>4</sub> AhxB; (P007)	RAhxRAhxRAhxRAhxRAhxRAhxB	573
(AhxRR) <sub>4</sub> AhxB	AhxRAhxRAhxRAhxRAhxRAhxB	574
(RAhx) <sub>6</sub> B	RAhxRAhxRAhxRAhxRAhxRAhxB	575
(RAhx) <sub>8</sub> B	RAhxRAhxRAhxRAhxRAhxRAhxRAhxR AhxB	576
(RAhxR) <sub>5</sub> AhxB	RAhxRAhxRAhxRAhxRAhxRAhxRAhx B	577

ES 2 714 787 T3

(RAhxRRBR) <sub>2</sub> AhxB; (CPO6062)	RAhxRRBRRAhxRRBRAhxB	578
MSP	ASSLNIA	579
Péptido de penetración celular / Péptido de localización / Conjugados de OMF (NH <sub>2</sub> a COOH y 5' a 3')		
MSP-OMF	ASSLNIA-XB-	580
	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	636
CP06062-MSP-OMF	RXRRBRRXRBR-XB-ASSLNIA-X-	581
	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	636
MSP-CP06062-OMF	ASSLNIA-X-RXRRBRRXRBR-B-	582
	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	636
CP06062-OMF	RXRRBRRXRBR-XB-	583
	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	636
*Ahx es ácido 6-aminohexanoico y B es beta-alanina.		

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> Sarepta Therapeutics, Inc.
- <120> COMPOSICIONES DE OMISIÓN EXÓNICA MÚLTIPLE PARA DMD
- <130> SIP14204PCTEPD2
- 10 <140> Solicitud divisional basada en EP14157806.2
- <141> 2009-10-23
- <150> US 61/108.416
- 15 <151> 24/10/2008
- <160> 651
- <170> FastSEQ para Windows versión 4.0
- 20 <210> 1
- <211> 25
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- 25 <220>
- <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada
- <400> 1
- 30 ctgcaggtaa aagcatatgg atcaa 25
- <210> 2
- <211> 25
- <212> ADN
- 35 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada
- <400> 2
- 40 atgcgctgca ggtaaaagca tatgg 25
- <210> 3
- <211> 25
- <212> ADN
- 45 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada
- 50 <400> 3
- gtcaaatgca ctgcaggtaa aagca 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 4  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 4  
10 gatctgtcaa atcgctgca ggtaa 25  
<210> 5  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 5  
caacagatct gtcaaatcgc ctgca 25  
<210> 6  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 6  
tttctcaaca gatctgtcaa atcgc 25  
<210> 7  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 7  
ccatttctca acagatctgt caaat 25  
45 <210> 8  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 8  
55 ataataaaaa cgccgccatt tctca 25  
<210> 9  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 9  
65 aaatatcttt atatcataat gaaaa 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 10  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 10  
tgtagccac tgattaaata tcttt 25  
<210> 11  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 11  
aaactgttca gcttctgtta gccac 25  
<210> 12  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 12  
ttgtgtcttt ctgagaaact gtcca 25  
<210> 13  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 13  
ccaattctca ggaatttggtg tcttt 25  
45 <210> 14  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 14  
gtatttagca tgtccaat tctca 25  
55 <210> 15  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
60 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 15  
65 ctaagatac cattgtatt tagca 25

# ES 2 714 787 T3

5  
<210> 16  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10  
<400> 16  
cttacctaa gataccattt gtatt 25

15  
<210> 17  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20  
<400> 17  
aaagacttac ctaagatac cattt 25

25  
<210> 18  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 18  
aaatcaaaga cttacctaa gatac 25

35  
<210> 19  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 19  
aaaacaaatc aaagacttac ctaa 25

45  
<210> 20  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55  
<400> 20  
tcgaaaaaac aaatcaaaga cttac 25

60  
<210> 21  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65  
<400> 21  
ctgtaagata ccaaaaaggc aaaac 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 22  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 22  
10 cctgtaagat accaaaaagg caaaa 25  
<210> 23  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 23  
agttcctgta agataccaaa aaggc 25  
<210> 24  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 24  
gagttcctgt aagataccaa aaagg 25  
<210> 25  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 25  
cctggagttc ctgtaagata ccaaa 25  
45 <210> 26  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 26  
55 tctggagtt cctgtaagat accaa 25  
<210> 27  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 27  
65 gccatcctgg agttcctgta agata 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 28  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 28  
tgccatcctg gagtcctgt aagat 25

10

<210> 29  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 29  
ccaatgcat cctggagtc ctgta 25

20

<210> 30  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30

<400> 30  
cccaatgcca tctggagtt cctgt 25

35

<210> 31  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 31  
gctgccaat gccatcctgg agttc 25

45

<210> 32  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 32  
cgctgcccaa tgccatcctg gagtt 25

55

<210> 33  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 33  
aacagtttg cgctgcccaa tgcca 25

65

## ES 2 714 787 T3

<210> 34  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 34  
ctgacaacag ttgccgctg cccaa 25

10

<210> 35  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 35  
gttgcaattca atgttctgac aacag 25

20

<210> 36  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 36  
gctgaattat ttctcccca gttgc 25

30

<210> 37  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 37  
attatttctt cccagttgc attca 25

40

<210> 38  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 38  
ggcatctgtt ttgaggatt gctga 25

50

<210> 39  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 39  
ttgaggatt gctgaattat ttctt 25

60

65

# ES 2 714 787 T3

5  
<210> 40  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10  
<400> 40  
aattttcct gtagaatact ggcatt 25

15  
<210> 41  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20  
<400> 41  
atactggcatt ctgttttga ggatt 25

25  
<210> 42  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

35  
<400> 42  
accgcagatt caggctccc aattt 25

40  
<210> 43  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45  
<400> 43  
aattttcct gtagaatact ggcatt 25

50  
<210> 44  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55  
<400> 44  
ctgtttgcag acctcctgcc accgc 25

60  
<210> 45  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65  
<400> 45  
agattcaggc ttccaattt ttctt 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 46  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 46  
10 ctctttttc tgtctgacag ctggt 25  
<210> 47  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 47  
acctcctgcc accgagatt caggc 25  
<210> 48  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 48  
cctaccttt ttttctgtct gacag 25  
<210> 49  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 49  
gacagctggt tgacagacctc ctgcc 25  
45 <210> 50  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 50  
55 gtcgccctac ctctttttc tgtct 25  
<210> 51  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 51  
65 gatctgtcgc cctaccttt ttttc 25

# ES 2 714 787 T3

5  
<210> 52  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
10 <400> 52  
tattagatct gtcgccctac ctct 25  
  
<210> 53  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
20 <400> 53  
attcctatta gatctgtcgc cctac 25  
  
<210> 54  
<211> 20  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
30 <400> 54  
agatacaaaa aaggcaaaac 20  
  
<210> 55  
<211> 20  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
40 <400> 55  
aagataccaa aaaggcaaaa 20  
  
45 <210> 56  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
55 <400> 56  
cctgtaagat accaaaaagg 20  
  
<210> 57  
<211> 20  
60 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
65 <400> 57  
gagttctgt aagataccaa 20

# ES 2 714 787 T3

<210> 58  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 58  
tcctggagtt cctgtaagat 20

10

<210> 59  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 59  
tgccatcctg gagttcctgt 20

20

<210> 60  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 60  
cccaatgcca tctggagtt 20

30

<210> 61  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 61  
cgctgccc aa tgccatcctg 20

40

<210> 62  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 62  
ctgacaacag ttgccgctg 20

50

<210> 63  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 63  
gttgattca atgttctgac 20

60

65

# ES 2 714 787 T3

5  
<210> 64  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
10  
<400> 64  
attatttctt ccccagttgc 20  
  
<210> 65  
<211> 20  
<212> ADN  
15  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
20  
<400> 65  
ttgaggatt gctgaattat 20  
  
<210> 66  
<211> 20  
<212> ADN  
25  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
30  
<400> 66  
atactggcat ctgttttga 20  
  
<210> 67  
<211> 20  
<212> ADN  
35  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
40  
<400> 67  
aatttttctt gtagaatact 20  
  
45  
<210> 68  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
50  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
55  
<400> 68  
agattcaggc ttccaattt 20  
  
<210> 69  
<211> 20  
<212> ADN  
60  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
65  
<400> 69  
acctcctgcc accgagatt 20

## ES 2 714 787 T3

<210> 70  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 70  
gacagctggt tgcagacctc 20

10

<210> 71  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20

<400> 71  
ctctttttc tgtctgacag 20

25

<210> 72  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 72  
cctacctct tttctgtct 20

35

<210> 73  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 73  
gtcgcctac ctctttttc 20

45

<210> 74  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 74  
gatctgtcgc cctacctct 20

55

<210> 75  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 75  
tattagatct gtcgcctac 20

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 76  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 76  
10 attcctatta gatctgtcgc 20  
<210> 77  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 77  
gggggatttg agaaaataaa attac 25  
<210> 78  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 78  
atgtgagaaa ataaaattac ctga 25  
<210> 79  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 79  
ctagcctgga gaaagaagaa taaaa 25  
45 <210> 80  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 80  
55 agaaaataaa attacctga ctgac 25  
<210> 81  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 81  
65 ttcttctagc ctggagaaag aagaa 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 82  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 82  
ataaaattac ctgactgc tcaag 25  
<210> 83  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
15  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 83  
tttgttctt ctgactgga gaaag 25  
<210> 84  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
25  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30  
<400> 84  
attacttga ctgctcaag cttt 25  
<210> 85  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
35  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40  
<400> 85  
tattctttg ttctctagc ctgga 25  
<210> 86  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
45  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
50  
<400> 86  
ctgactgc tcaagcttt cttt 25  
<210> 87  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
55  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
60  
<400> 87  
caagatattc tttgttctt ctgac 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 88  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 88  
cttttagttg ctgctcttt ccagg 25  
<210> 89  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
15  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 89  
ccaggtcaa gtgggatact agcaa 25  
<210> 90  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
25  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30  
<400> 90  
atctcttga aattctgaca agata 25  
<210> 91  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
35  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40  
<400> 91  
agcaatgta tctgcttct ccaac 25  
45  
<210> 92  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 92  
aacaattca ttaaactct ttga 25  
55  
<210> 93  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
60  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 93  
ccaaccataa aacaattca ttaa 25  
65

# ES 2 714 787 T3

<210> 94  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 94  
10 ttctccaac cataaaaca attca 25  
<210> 95  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 95  
ttaaatctc ttgaaattc tgaca 25  
<210> 96  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 96  
tgacaagata ttctttggt cttct 25  
<210> 97  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
40 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 97  
45 ttcaagtggg atactagcaa tgta 25  
<210> 98  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 98  
55 agatattctt ttgttctct agcct 25  
<210> 99  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 99  
65 ctgctctttt ccagggtcaa gtggg 25

# ES 2 714 787 T3

5  
<210> 100  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10  
<400> 100  
ttctttgtt cttctagcct ggaga 25

15  
<210> 101  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20  
<400> 101  
ctttctttt agttgctgct cttt 25

25  
<210> 102  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 102  
tgttcttct agcctggaga aagaa 25

35  
<210> 103  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 103  
cttctagcct ggagaaagaa gaata 25

45  
<210> 104  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55  
<400> 104  
agcctggaga aagaagaata aaatt 25

60  
<210> 105  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65  
<400> 105  
ctggagaaag aagaataaaa ttgtt 25

# ES 2 714 787 T3

5  
<210> 106  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10  
<400> 106  
gaaagaagaa taaattgtt 20

15  
<210> 107  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20  
<400> 107  
ggagaagaa gaataaaatt 20

25  
<210> 108  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

35  
<400> 108  
agcctggaga aagaagaata 20

40  
<210> 109  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45  
<400> 109  
cttctagcct ggagaagaa 20

50  
<210> 110  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 110  
tgttctct agcctggaga 20

60  
<210> 111  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

65  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 111  
ttctttgtt cttctagcct 20

# ES 2 714 787 T3

5  
<210> 112  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10  
<400> 112  
tgacaagata ttctttggt 20

15  
<210> 113  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20  
<400> 113  
atctctttga aattctgaca 20

25  
<210> 114  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

35  
<400> 114  
aacaaattca tttaaactc 20

40  
<210> 115  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

50  
<400> 115  
ttctccaac cataaaaca 20

55  
<210> 116  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65  
<400> 116  
agcaatgtta tctgcttct 20

70  
<210> 117  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

75  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

80  
<400> 117  
ttcaagtgg atactagcaa 20

# ES 2 714 787 T3

<210> 118  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 118  
ctgctctttt ccaggttcaa      20

10

<210> 119  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 119  
cttttctttt agttgctgct      20

20

<210> 120  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30

<400> 120  
ctgactgctgc tcaagctttt      20

<210> 121  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40

<400> 121  
attaccttga ctgctcaag      20

45

<210> 122  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 122  
ataaaattac ctgactgctgc      20

55

<210> 123  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 123  
agaaaataaa attaccttga      20

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 124  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 124  
atttgagaaa ataaaattac      20

10

<210> 125  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 125  
gggggatttg agaaaataaa      20

20

<210> 126  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 126  
ctgaaacaga caaatgcaac aacgt      25

30

<210> 127  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 127  
agtaactgaa acagacaaat gcaac      25

40

<210> 128  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 128  
ccaccagtaa ctgaaacaga caaat      25

50

<210> 129  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 129  
ctctccacc agtaactgaa acaga      25

60

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 130  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 130  
ggcaactctt ccaccagtaa ctgaa 25

10

<210> 131  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 131  
gcaggggcaa ctctccacc agtaa 25

20

<210> 132  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30

<400> 132  
ctggcgcagg ggcaactctt ccacc 25

<210> 133  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40

<400> 133  
ttaaattgtt tgagaattcc ctggc 25

45

<210> 134  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 134  
tgtttgaga attcctggc gcagg 25

55

<210> 135  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 135  
gcacgggtcc tccagttca ttaa 25

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 136  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 136  
tccagttca ttaattgtt tgaga 25

10

<210> 137  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20

<400> 137  
gcttatggga gcactaca gcacg 25

25

<210> 138  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 138  
tacaagcacg ggtcctccag ttca 25

35

<210> 139  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 139  
agtttatctt gctctctgg gctta 25

45

<210> 140  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 140  
tctgctgag ctattttca agttt 25

55

<210> 141  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 141  
atcttgctct tctgggctta tggga 25

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 142  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 142  
10 cttatccac tggagatttg tctgc 25  
<210> 143  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 143  
cttatttca agtttatctt gctct 25  
<210> 144  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 144  
ctaacctta tccactggag atttg 25  
<210> 145  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 145  
attgtctgc ttgagcttat ttca 25  
45 <210> 146  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 146  
55 aatgtctaac cttatccac tggag 25  
<210> 147  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 147  
65 tggtaatgt ctaacctta tccac 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 148  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 148  
10 agagatggtt aatgtctaac ctta 25  
<210> 149  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 149  
acggaagaga tggtaatgt ctaac 25  
<210> 150  
<211> 20  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 150  
acagacaaat gcaacaacgt 20  
<210> 151  
<211> 20  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
40 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 151  
ctgaaacaga caaatgcaac 20  
45 <210> 152  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 152  
55 agtaactgaa acagacaaat 20  
<210> 153  
<211> 20  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 153  
65 ccaccagtaa ctgaaacaga 20

## ES 2 714 787 T3

<210> 154  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 154  
ctctccacc agtaactgaa      20

10

<210> 155  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20

<400> 155  
ggcaactctt ccaccagtaa      20

25

<210> 156  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 156  
ctggcgcagg ggcaactctt      20

35

<210> 157  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 157  
ttgttgaga attcctggc      20

45

<210> 158  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 158  
tcagtttca ttaattgtt      20

55

<210> 159  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 159  
tacaagcacg ggtcctccag      20

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 160  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 160  
10 gcttatggga gcacttaaa 20  
<210> 161  
<211> 20  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 161  
atctgtctct tctgggctta 20  
<210> 162  
<211> 20  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 162  
cttattttca agtttatctt 20  
<210> 163  
<211> 20  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 163  
attgtctgc ttgagcttat 20  
45 <210> 164  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 164  
55 cttatccac tggagatttg 20  
<210> 165  
<211> 20  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 165  
65 ctaaccttta tccactggag 20

# ES 2 714 787 T3

<210> 166  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 166  
aatgtctaac cttatccac 20

10

<210> 167  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 167  
tggtaatgt ctaacctta 20

20

<210> 168  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30

<400> 168  
agagatggtt aatgtctaac 20

<210> 169  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 169  
acggaagaga tggtaatgt 20

40

<210> 170  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 170  
ctgaaaggaa aatacattt aaaaa 25

50

<210> 171  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 171  
cctgaaagga aaatacattt taaaa 25

60

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 172  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 172  
10 gaaacctgaa aggaaaatac atttt 25  
<210> 173  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 173  
ggaaacctga aaggaaaata cattt 25  
<210> 174  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 174  
ctctggaaac ctgaaaggaa aatac 25  
<210> 175  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 175  
gctctggaaa cctgaaagga aaata 25  
45 <210> 176  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 176  
55 gtaaagctct ggaaacctga aagga 25  
<210> 177  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 177  
65 tcaggtaaag ctctggaaac ctgaa 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 178  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 178  
10 ctcaggtaaa gctctggaaa cctga 25  
<210> 179  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 179  
gtttctcagg taaagctctg gaaac 25  
<210> 180  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 180  
tgtttctcag gtaaagctct ggaac 25  
<210> 181  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 181  
aatttctcct tgtttctcag gtaaa 25  
45 <210> 182  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 182  
55 ttgagcttc aatttctcct tgtt 25  
<210> 183  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 183  
65 ttttattga gcttcaatt ctcct 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 184  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
<400> 184  
10 aagctgccca aggtcttta ttga 25  
  
<210> 185  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20  
<400> 185  
aggcttcaa gcttttttc aagct 25  
  
<210> 186  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30  
<400> 186  
ttcaagctt tttcaagct gccca 25  
  
<210> 187  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40  
<400> 187  
gatgattaa ctgcttca aggtc 25  
  
<210> 188  
<211> 25  
45 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
50  
<400> 188  
55 ctgcttca aggttcaa gctt 25  
  
<210> 189  
<211> 25  
60 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
65  
<400> 189  
aggagataac cacagcagca gatga 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 190  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 190  
10 cagcagatga ttaactgct ctca 25  
<210> 191  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 191  
attccaact gattcctaat aggag 25  
<210> 192  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 192  
ctggtttgg ttggtataa atttc 25  
<210> 193  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
40 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 193  
45 caactgattc ctaataggag ataac 25  
<210> 194  
<211> 25  
<212> ADN  
50 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 194  
55 ctaacgtca aatggtcctt ctgg 25  
<210> 195  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 195  
65 ttggtataa attccaact gattc 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 196  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 196  
10 cctaccttaa cgtcaaatgg tcctt 25  
<210> 197  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 197  
tccttcttgg ttggttgg tataa 25  
<210> 198  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 198  
agttccctac ctaacgtca aatgg 25  
<210> 199  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 199  
caaaaagttc cctaccttaa cgta 25  
45 <210> 200  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 200  
55 taaagcaaaa agttccctac cttaa 25  
<210> 201  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 201  
65 atatttaaag caaaaagttc cctac 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 202  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 202  
aggaaaatac attttaaaaa 20  
<210> 203  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
15  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20  
<400> 203  
aaggaaaata cattttaaaa 20  
<210> 204  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
25  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30  
<400> 204  
cctgaaagga aaatacattt 20  
<210> 205  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
35  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40  
<400> 205  
ggaaacctga aaggaaaata 20  
45  
<210> 206  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 206  
gctctgaaa cctgaaagga 20  
55  
<210> 207  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
60  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 207  
gtaaagctct ggaaacctga 20  
65

# ES 2 714 787 T3

<210> 208  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 208  
ctcaggtaaa gctctggaaa 20  
<210> 209  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
15  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20  
<400> 209  
aatttctct tgtttctcag 20  
<210> 210  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
25  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30  
<400> 210  
ttttattga gcttcaatt 20  
<210> 211  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
35  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40  
<400> 211  
aagctgcca aggtcttta 20  
45  
<210> 212  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 212  
ttcaagctt tttcaagct 20  
55  
<210> 213  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
60  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 213  
ctgcttca aggttcaa 20  
65

# ES 2 714 787 T3

5  
<210> 214  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10  
<400> 214  
cagcagatga ttaactgct 20

15  
<210> 215  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20  
<400> 215  
aggagataac cacagcagca 20

25  
<210> 216  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30  
<400> 216  
caactgattc ctaataggag 20

35  
<210> 217  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40  
<400> 217  
ttggtataa attccaact 20

45  
<210> 218  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55  
<400> 218  
tccttcttg tttggtggt 20

60  
<210> 219  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65  
<400> 219  
ctaacgtca aatggtcctt 20

# ES 2 714 787 T3

<210> 220  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 220  
10 cctaccttaa cgcaaatgg 20  
<210> 221  
<211> 20  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 221  
agttccctac cttacgtca 20  
<210> 222  
<211> 20  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 222  
caaaaagttc cctaccttaa 20  
<210> 223  
<211> 20  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 223  
taaagcaaaa agttccctac 20  
45 <210> 224  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 224  
55 atatttaaag caaaaagttc 20  
<210> 225  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 225  
65 ctggggaaaa gaaccatat agtgc 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 226  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 226  
tcctggggaa aagaacccat atagt      25

10

<210> 227  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 227  
gtttcctggg gaaaagaacc catat      25

20

<210> 228  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30

<400> 228  
cagtttctg gggaaaagaa cccat      25

35

<210> 229  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 229  
tttcagtttc ctggggaaaa gaacc      25

45

<210> 230  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 230  
tatttcagtt tcctggggaa aagaa      25

55

<210> 231  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 231  
tgctatttca gtttctggg gaaaa      25

65

## ES 2 714 787 T3

<210> 232  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 232  
10 actgctattt cagttcctg gggaa 25  
<210> 233  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 233  
tgaactgcta tttcagttc ctggg 25  
<210> 234  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 234  
ctggaactgc tatttcagtt tcttg 25  
<210> 235  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
40 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 235  
tagctgaac tgctatttca gtttc 25  
45 <210> 236  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 236  
55 ttagcttga actgctattt cagtt 25  
<210> 237  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 237  
65 ttccacatcc ggtgttag ctgga 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 238  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 238  
tgcccttag acaaatctc ttcca 25

10

<210> 239  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 239  
ttagacaaa atctctcca catcc 25

20

<210> 240  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30

<400> 240  
gttttcctt gtacaaatgc tgccc 25

<210> 241  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 241  
gtacaaatgc tgcccttag acaaa 25

40

<210> 242  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 242  
cttactggc tgagtgctg gtttt 25

50

<210> 243  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 243  
ggctggttt tcttgtaca aatgc 25

60

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 244  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 244  
10 attacctca ctggctgagt ggctg 25  
<210> 245  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 245  
gcttcattac cttcactggc tgagt 25  
<210> 246  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 246  
aggttgcttc attacctca ctggc 25  
<210> 247  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
40 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 247  
gctagaggtt gcttcattac ctca 25  
45 <210> 248  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 248  
55 atattgctag aggttgcttc attac 25  
<210> 249  
<211> 20  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 249  
65 gaaaagaacc catatagtc 20

# ES 2 714 787 T3

<210> 250  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 250  
10 gggaaaagaa cccatatagt 20  
<210> 251  
<211> 20  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 251  
tcctggggaa aagaacccat 20  
<210> 252  
<211> 20  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 252  
cagtttctg gggaaaagaa 20  
<210> 253  
<211> 20  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 253  
tatttcagtt tcctggggaa 20  
45 <210> 254  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 254  
55 actgctatt cagtttctg 20  
<210> 255  
<211> 20  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 255  
65 ctgaactgc tatttcagtt 20

# ES 2 714 787 T3

<210> 256  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 256  
ttagcttga actgctattt      20

10

<210> 257  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 257  
ttccacatcc ggtgttttag      20

20

<210> 258  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30

<400> 258  
ttagacaaa atctctcca      20

<210> 259  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 259  
gtacaaatgc tgcccttag      20

40

<210> 260  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 260  
ggctggttt tcctgtaca      20

50

<210> 261  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 261  
cttactggc tgagtggctg      20

60

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 262  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 262  
attacctca ctggctgagt      20

10

<210> 263  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 263  
gcttcattac cttcactggc      20

20

<210> 264  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30

<400> 264  
aggttgcttc attacctca      20

<210> 265  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40

<400> 265  
gctagaggtt gcttcattac      20

45

<210> 266  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 266  
atattgctag aggttgcttc      20

55

<210> 267  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 267  
cttaacaga aaagcataca catta      25

65

# ES 2 714 787 T3

<210> 268  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 268  
10 tcctcttaa cagaaaagca tacac 25  
<210> 269  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 269  
ttcctctta acagaaaagc ataca 25  
<210> 270  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 270  
taacttctc ttaacagaa aagca 25  
<210> 271  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
40 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 271  
ctaacttct cttaacaga aaagc 25  
45 <210> 272  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 272  
55 tcttctaact tcctcttaa cagaa 25  
<210> 273  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 273  
65 atcttctaac tcctctta acaga 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 274  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 274  
10 tcagatcttc taactcctc tttaa 25  
<210> 275  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 275  
ctcagatctt ctaactcct ctffa 25  
<210> 276  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 276  
agagctcaga tcttctaact tcttc 25  
<210> 277  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 277  
cagagctcag atcttctaac ttctt 25  
45 <210> 278  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 278  
55 cactcagagc tcagatcttc tact 24  
<210> 279  
<211> 25  
<212> ADN  
60 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 279  
65 ccttcactc agagctcaga tcttc 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 280  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
5  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 280  
10 gtaaacgggtt taccgccttc cactc 25  
<210> 281  
<211> 25  
<212> ADN  
15 <213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
20 <400> 281  
ctttgccctc agctcttgaa gtaaa 25  
<210> 282  
<211> 25  
25 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
30 <400> 282  
ccctcagctc ttgaagtaaa cgggtt 25  
<210> 283  
<211> 25  
35 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
40 <400> 283  
ccaggagcta ggtcaggctg ctttg 25  
45 <210> 284  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 284  
55 ggtcaggctg cttgccctc agctc 25  
<210> 285  
<211> 25  
60 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
<400> 285  
65 aggctccaat agtggtcagt ccagg 25

# ES 2 714 787 T3

<210> 286  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 286  
tcagtccagg agctaggtca ggctg 25

10

<210> 287  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 287  
cttacaggct ccaatagtg ttagt 25

20

<210> 288  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 288  
gtatacttac aggctccaat agtgg 25

30

<210> 289  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 289  
atccagtata cttacaggct ccaat 25

40

<210> 290  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 290  
atgggatcca gtatacttac aggct 25

50

<210> 291  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 291  
agagaatggg atccagtata cttac 25

60

65

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 292  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 292  
acagaaaagc atacacatta 20

15 <210> 293  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 293  
ttaaacagaa aagcatacac 20

25 <210> 294  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 294  
tcctcttaa cagaaaagca 20

35 <210> 295  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 295  
taactcctc ttaaacagaa 20

50 <210> 296  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 296  
tcttctaact tcctcttaa 20

60 <210> 297  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 297  
tcagatcttc taactcctc 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 298  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 298  
ccttcactc agagctcaga 20

<210> 299  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 299  
gtaaacgggtt taccgccttc 20

<210> 300  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 300  
ccctcagctc ttgaagtaaa 20

<210> 301  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40 <400> 301  
ggtcaggctg cttgcccctc 20

45 <210> 302  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 302  
tcagtccagg agctaggta 20

55 <210> 303  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 303  
aggctccaat agtggctcagt 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 304  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 304  
cttacaggct ccaatagtg 20

<210> 305  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 305  
gtatacttac aggctccaat 20

<210> 306  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 306  
atccagtata cttacaggct 20

<210> 307  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40 <400> 307  
atgggatcca gtatacttac 20

45 <210> 308  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 308  
agagaatggg atccagtata 20

<210> 309  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 309  
ctaaaatatt ttgggtttt gcaaaa 26

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 310  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 310  
gctaaaatat ttgggttt tgcaaa 26

<210> 311  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 311  
taggagctaa aatatttg gtttt 26

<210> 312  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 312  
agtaggagct aaaatattt gggtt 25

35 <210> 313  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 313  
tgagtaggag ctaaaatatt ttggg 25

<210> 314  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 314  
ctgagtagga gctaaaatat ttggg 26

<210> 315  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 315  
cagtctgagt aggagctaaa atatt 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 316  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 316  
acagtctgag taggagctaa aatatt 26

15 <210> 317  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 317  
gagtaacagt ctgagtagga gctaaa 26

25 <210> 318  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 318  
cagagtaaca gtctgagtag gagct 25

35 <210> 319  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 319  
caccagagta acagtctgag taggag 26

50 <210> 320  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 320  
gtcaccagag taacagtctg agtag 25

60 <210> 321  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 321  
aaccacaggt tgtgcacca gagtaa 26

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 322  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 322  
gttgtgtcac cagagtaaca gtctg 25

15 <210> 323  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 323  
tggcagtttc cttagtaacc acaggt 26

25 <210> 324  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 324  
atttctagtt tggagatggc agtttc 26

35 <210> 325  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 325  
ggaagatggc atttctagtt tggag 25

50 <210> 326  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 326  
catcaaggaa gatggcattt ctagtt 26

60 <210> 327  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 327  
gagcaggtac ctccaacatc aaggaa 26

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 328  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 328  
atctgccaga gcaggtacct ccaac 25

15 <210> 329  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 329  
aagttctgtc caagcccggt tgaat 26

25 <210> 330  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 330  
cgggtgaaat ctgccagagc aggtac 26

35 <210> 331  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 331  
gagaaagcca gtcgtaagt tctgtc 26

50 <210> 332  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 332  
gtcggtaagt tctgtccaag cccgg 25

60 <210> 333  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 333  
ataacttgat caagcagaga aagcca 26

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 334  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 334  
aagcagagaa agccagtcgg taagt 25

15 <210> 335  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 335  
cacctctgt gatttataa cttgat 26

25 <210> 336  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 336  
caaggtcacc caccatcacc ctctgt 26

35 <210> 337  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 337  
catcacctc tgtgattta taact 25

50 <210> 338  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 338  
cttctgctg atgatcatct cgttga 26

60 <210> 339  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 339  
ccttctgctt gatgatcatc tcgttg 26

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 340  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 340  
atctcgttga tctcctcaag gtcacc 26

15 <210> 341  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 341  
tcataccttc tgcttgatga tcatct 26

25 <210> 342  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 342  
tcatttttc tcataccttc tgcttg 26

35 <210> 343  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 343  
tttttcata ccttctgctt gatgat 26

50 <210> 344  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 344  
ttttatcatt ttttctcata ccttct 26

60 <210> 345  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 345  
ccaactttta tcatttttc tcatac 26

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 346  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 346  
atatttggg ttttgcaaa 20

15 <210> 347  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 347  
aaaatattt gggttttgc 20

25 <210> 348  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 348  
gagctaaaat atttgggtt 20

35 <210> 349  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 349  
agtaggagct aaaatattt 20

50 <210> 350  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 350  
gtctgagtag gagctaaaat 20

60 <210> 351  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 351  
taacagtctg agtaggagct 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 352  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 352  
cagagtaaca gtctgagtag 20

15 <210> 353  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 353  
cacaggtgt gtcaccagag 20

25 <210> 354  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 354  
agtttcctta gtaaccacag 20

35 <210> 355  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 355  
tagtttgag atggcagttt 20

50 <210> 356  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 356  
ggaagatggc atttctagtt 20

60 <210> 357  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 357  
tacctccaac atcaaggaag 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 358  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 358  
atctgccaga gcaggtacct 20

<210> 359  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 359  
ccaagcccgg ttgaaatctg 20

<210> 360  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 360  
gtcggtaagt tctgtccaag 20

<210> 361  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40 <400> 361  
aagcagagaa agccagtcgg 20

45 <210> 362  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 362  
ttttataact tgatcaagca 20

<210> 363  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 363  
catcacccctc tgtgatttta 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 364  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 364  
ctcaaggatca cccaccatca 20

15 <210> 365  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 365  
catctcgttg atatctcaa 20

25 <210> 366  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 366  
cttctgcttg atgatcatct 20

35 <210> 367  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 367  
catacctct gcttgatgat 20

50 <210> 368  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 368  
tttctatac cttctgcttg 20

60 <210> 369  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 369  
catttttct catacctct 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 370  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 370  
tttatcattt ttctcatc 20

<210> 371  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 371  
caactttat catttttct 20

25 <210> 372  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 372  
ctgtaagaac aaataccct tagta 25

35 <210> 373  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 373  
tgctgtaag aacaaatc ccta 25

<210> 374  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 374  
gttgctgta agaacaata tccct 25

<210> 375  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 375  
attgtgct gtaagaaca atac 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 376  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 376  
gcattgtgc ctgtaagaac aaata 25

15 <210> 377  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 377  
cctgcattgt tgctgtaag aaca 25

25 <210> 378  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 378  
atcctgcatt gttgcctgta agaac 25

35 <210> 379  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 379  
caaatcctgc attgtgctt gtaag 25

50 <210> 380  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 380  
tccaaatcct gcattgtgc ctgta 25

60 <210> 381  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 381  
tgttccaaat cctgcattgt tgctt 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 382  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 382  
tctgttccaa atcctgcatt gttgc 25

15 <210> 383  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 383  
aactggggac gcctctgttc caaat 25

25 <210> 384  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 384  
gcctctgttc caaatcctgc attgt 25

35 <210> 385  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 385  
cagcggtaat gaggcttcc aactg 25

50 <210> 386  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 386  
ctccaactg gggacgcctc tgttc 25

60 <210> 387  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 387  
ctgtttttc aaattttggg cagcg 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 388  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 388  
ctagcctctt gattgctggt cttgt 25

<210> 389  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 389  
tttcaaatt ttggcagcg gtaat 25

<210> 390  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 390  
ttcgatccgt aatgattgt ctagc 25

<210> 391  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40 <400> 391  
gattgctggt ctgttttc aaatt 25

<210> 392  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

50 <400> 392  
cttacttcga tccgtaatga ttgtt 25

<210> 393  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

60 <400> 393  
ttgttctagc ctcttgattg ctggt 25

65

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 394  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 394  
aaaaacttac ttcgatccgt aatga 25

15 <210> 395  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 395  
tgtaaaaaa ctacttcga tccgt 25

25 <210> 396  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 396  
atgcttgta aaaaacttac ttcga 25

35 <210> 397  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 397  
gtcccatgct tgtaaaaaa cttac 25

50 <210> 398  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 398  
agaacaaata tcccttagta 20

60 <210> 399  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 399  
gtaagaacaa atatccctta 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 400  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 400  
tgctgtaag aacaaatc 20

<210> 401  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 401  
attgtgcct gtaagaaca 20

<210> 402  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 402  
cctgcattgt tgctgtaag 20

35 <210> 403  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 403  
caaatcctgc attgtgcct 20

<210> 404  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 404  
gcctctgttc caaatcctgc 20

<210> 405  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 405  
cttccaactg gggacgcctc 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 406  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 406  
cagcggtaat gaggctctcc 20

<210> 407  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 407  
tttcaaatt ttggcagcg 20

<210> 408  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 408  
gattgctggt ctgttttc 20

<210> 409  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40 <400> 409  
ttgttctagc ctcttgattg 20

<210> 410  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

50 <400> 410  
ttcgatccgt aatgattgtt 20

<210> 411  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

60 <400> 411  
cttacttcga tccgtaatga 20

65 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 412  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 412  
aaaaacttac ttcgatccgt 20

<210> 413  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 413  
tgtaaaaaa ctacttcga 20

<210> 414  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 414  
atgcttgta aaaaacttac 20

<210> 415  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40 <400> 415  
gtccatgct tgtaaaaaa 20

<210> 416  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 416  
ctagaataaa aggaaaaata aatat 25

<210> 417  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

60 <400> 417  
aactagaata aaaggaaaaa taaat 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 418  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 418  
ttcaactaga ataaaaggaa aaata 25

15 <210> 419  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 419  
cttcaacta gaataaaagg aaaaa 25

25 <210> 420  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 420  
attcttcaa ctagaataaa aggaa 25

35 <210> 421  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 421  
gaattcttc aactagaata aaagg 25

50 <210> 422  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 422  
tctgaattct ttcaactaga ataaa 25

60 <210> 423  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 423  
attctgaatt cttcaacta gaata 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 424  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 424  
ctgattctga attcttcaa ctaga 25

15 <210> 425  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 425  
cactgattct gaattcttc aacta 25

25 <210> 426  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 426  
tcccactgat tctgaattct tcaa 25

35 <210> 427  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 427  
catcccactg attctgaatt cttc 25

50 <210> 428  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 428  
tactcatcc cactgattct gaatt 25

60 <210> 429  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 429  
ctgaagggtg tctgtactt catcc 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 430  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 430  
cggttctgaa ggtgtcttg tact 24

15 <210> 431  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 431  
ctggtgcctc cggttctgaa ggtgt 25

25 <210> 432  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 432  
ttcattcaa ctggtgcctc cggtt 25

35 <210> 433  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 433  
taacatttca ttcaactgtt gcctc 25

50 <210> 434  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 434  
ttgtgtgaa tcctttaaca ttca 25

60 <210> 435  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 435  
tcttccttag cttccagcca ttgtg 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 436  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 436  
cttagctcc agccattgtg ttgaa 25

15 <210> 437  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 437  
gtcctaagac ctgctcagct tcttc 25

25 <210> 438  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 438  
ctgctcagct tcttcctag ctcc 25

35 <210> 439  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 439  
ctcaagcttg gctctggcct gtcct 25

50 <210> 440  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 440  
ggcctgtcct aagacctgct cagct 25

60 <210> 441  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 441  
tagggacct ccttccatga ctcaa 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 442  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 442  
ttggattgc atctactgta taggg 25

15 <210> 443  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 443  
accctccttc catgactcaa gcttg 25

25 <210> 444  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 444  
ctggtttct gtgatttct tttgg 25

35 <210> 445  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 445  
atctactgta tagggaccct ccttc 25

50 <210> 446  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 446  
ctaaccttgg ttctgtgat ttct 25

60 <210> 447  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 447  
ttcttttgg attgcatcta ctgta 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 448  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 448  
tgatactaac cttggttct gtgat 25

15 <210> 449  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 449  
atcttgata ctaacctgg ttct 25

25 <210> 450  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 450  
aaggtatctt tgatactaac cttgg 25

35 <210> 451  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 451  
ttaaaaagggt atcttgata ctaac 25

50 <210> 452  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 452  
ataaaaaggaa aaataaatat 20

60 <210> 453  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 453  
gaataaaaagg aaaaataaat 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 454  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 454  
aactagaata aaaggaaaa 20

15 <210> 455  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 455  
cttcaacta gaataaaagg 20

25 <210> 456  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 456  
gaattcttc aactagaata 20

35 <210> 457  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 457  
attctgaatt cttcaacta 20

50 <210> 458  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 458  
tactcatcc cactgattct 20

60 <210> 459  
<211> 19  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 459  
ctgaaggtgt tcttgact 19

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 460  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 460  
ctgtgcctc cggttctgaa 20

<210> 461  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 461  
taacattca tcaactgtt 20

<210> 462  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 462  
ttgtgtgaa tccttaaca 20

<210> 463  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40 <400> 463  
ctagctcc agccattgtg 20

<210> 464  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

50 <400> 464  
ctgctcagct tcttccttag 20

<210> 465  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

60 <400> 465  
ggcctgtcct aagacctgct 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 466  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 466  
ctcaagcttg gctctggcct 20

15 <210> 467  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 467  
accctccttc catgactcaa 20

25 <210> 468  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 468  
atctactgta tagggaccct 20

35 <210> 469  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 469  
tttcttttgg attgcatcta 20

50 <210> 470  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 470  
cttggttct gtgatttct 20

60 <210> 471  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 471  
ctaaccttgg tttctgtgat 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 472  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 472  
tgatactaac cttggttct 20

15 <210> 473  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 473  
atcttgata ctaacctgg 20

25 <210> 474  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 474  
aaggtatctt tgatactaac 20

35 <210> 475  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 475  
ttaaaaaggt atcttgata 20

50 <210> 476  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 476  
ctatagattt ttatgagaaa gaga 24

60 <210> 477  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 477  
aactgctata gattttatg agaaa 25

## ES 2 714 787 T3

5 <210> 478  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
 10 <400> 478  
 tggccaactg ctatagattt ttatg 25  
  
 <210> 479  
 <211> 25  
 15 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
 20  
 <400> 479  
 gtctttggcc aactgctata gattt 25  
  
 <210> 480  
 <211> 25  
 25 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
 30  
 <400> 480  
 cggaggtctt tggccaactg ctata 25  
  
 <210> 481  
 <211> 25  
 35 <212> ADN  
  
 <213> Secuencia artificial  
 40 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
 <400> 481  
 actggcggag gtctttggcc aactg 25  
 45  
 <210> 482  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 50 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
 <400> 482  
 55 ttgtctgcc actggcggag gtctt 25  
  
 <210> 483  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 60 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada  
  
 <400> 483  
 65 agtcatttgc cacatctaca ttgt 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 484  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 484  
ttgccacat ctacattgt ctgcc 25

15 <210> 485  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 485  
ccggagaagt ttcaggcca agtca 25

25 <210> 486  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 486  
gtatcatctg cagaataatc ccgga 25

35 <210> 487  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 487  
taatccgga gaagttcag ggcca 25

50 <210> 488  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 488  
ttatcatgtg gactttctg gtatc 25

60 <210> 489  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 489  
agaggcattg atattctctg ttatc 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 490  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 490  
atgtggactt ttctggtatc atctg 25

15 <210> 491  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 491  
ctttatgaa tgcttctcca agagg 25

25 <210> 492  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 492  
atattctctg ttatcatgtg gactt 25

35 <210> 493  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 493  
catacctttt atgaatgctt ctcca 25

50 <210> 494  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 494  
ctccaagagg cattgatatt ctctg 25

60 <210> 495  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 495  
taattcatcac cttttatgaa tgctt 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 496  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 496  
ctttatgaa tgcttctcca agagg 25

15 <210> 497  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 497  
taatgtaatt cataccttt atgaa 25

25 <210> 498  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 498  
agaaataatg taattcatac cttt 25

35 <210> 499  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 499  
gttttagaaa taatgtaatt catac 25

50 <210> 500  
<211> 19  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 500  
gattttatg agaaagaga 19

60 <210> 501  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 501  
ctatagatt ttatgagaaa 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 502  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 502  
aactgctata gattttatg 20

15 <210> 503  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 503  
tggccaactg ctatagatt 20

25 <210> 504  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 504  
gtctttggcc aactgctata 20

35 <210> 505  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 505  
cggaggtctt tggccaactg 20

50 <210> 506  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 506  
ttgtctgcc actggcggag 20

60 <210> 507  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 507  
ttgccacat ctacattgt 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 508  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 508  
ttcaggcca agtcattgc 20

<210> 509  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 509  
taatcccga gaagttcag 20

<210> 510  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 510  
gtatcatctg cagaataatc 20

35 <210> 511  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 511  
atgtggactt ttctgtatc 20

<210> 512  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 512  
atattctctg ttatcatgtg 20

<210> 513  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 513  
ctccaagagg cattgatatt 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 514  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 514  
ctttatgaa tgcttctcca 20

15 <210> 515  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 515  
cataccttt atgaatgctt 20

25 <210> 516  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 516  
taattcatac ctttatgaa 20

35 <210> 517  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 517  
taatgtaatt cataccttt 20

50 <210> 518  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 518  
agaaataatg taattcatac 20

60 <210> 519  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 519  
gttttagaaa taatgtaatt 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 520  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 520  
ctgcaaagga ccaaatgttc agatg 25

15 <210> 521  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 521  
tcaccctgca aaggaccaa tggtc 25

25 <210> 522  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 522  
ctcactcacc ctgcaaagga ccaaa 25

35 <210> 523  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 523  
tctcgctcac tcaccctgca aagga 25

50 <210> 524  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 524  
cagcctctcg ctcactcacc ctgca 25

60 <210> 525  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 525  
caaagcagcc tctcgctcac tcacc 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 526  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 526  
tcttccaaag cagcctctcg ctcac 25

15 <210> 527  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 527  
tctatgagtt tcttccaaag cagcc 25

25 <210> 528  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 528  
gttgacagtaa tctatgagtt tcttc 25

35 <210> 529  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 529  
gaactgttgc agtaatctat gagtt 25

50 <210> 530  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 530  
ttccaggtcc agggggaact gttgc 25

60 <210> 531  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 531  
gtaagccagg caagaaactt ttcca 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 532  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 532  
ccaggcaaga aactttcca ggtcc 25

15 <210> 533  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 533  
tggcagttgt ttcagcttct gtaag 25

25 <210> 534  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 534  
ggtagcatcc tgtaggacat tggca 25

35 <210> 535  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 535  
gacattggca gttgttcag cttct 25

50 <210> 536  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 536  
tctaggagcc ttccttacg ggtag 25

60 <210> 537  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 537  
ctttactcc cttggagtct tctag 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 538  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 538  
gagccttcc ttacggtag catcc 25

15 <210> 539  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 539  
tgccattgt ttcatcagct cttt 25

25 <210> 540  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 540  
ctggagtct tctaggagcc ttcc 25

35 <210> 541  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 541  
ctacttgcc attgttcat cagct 25

50 <210> 542  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 542  
cagctcttt actcccttg agtct 25

60 <210> 543  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 543  
cctgacttac ttgcattgt ttcat 25

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 544  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 544  
aaatgcctga ctactgcc attgt 25

15 <210> 545  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 545  
agcggaaatg cctgacttac ttgcc 25

25 <210> 546  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 546  
gctaaagcgg aaatgcctga ctac 25

35 <210> 547  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 547  
aaggaccaaa tggtcagatg 20

50 <210> 548  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 548  
ctgcaaagga ccaaagtgc 20

60 <210> 549  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 549  
tcaccctgca aaggaccaaa 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 550  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 550  
ctcactcacc ctgcaaagga 20

15 <210> 551  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 551  
tctcgctcac tcaccctgca 20

25 <210> 552  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 552  
cagcctctcg ctcactcacc 20

35 <210> 553  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 553  
caaagcagcc tctcgctcac 20

50 <210> 554  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 554  
tctatgagtt tcttcaaag 20

60 <210> 555  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 555  
gaactgttgc agtaatctat 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 556  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 556  
ttccaggtcc agggggaact 20

15 <210> 557  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 557  
ccaggcaaga aactttcca 20

25 <210> 558  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 558  
ttcagcttct gtaagccagg 20

35 <210> 559  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 559  
gacattggca gttgttcag 20

50 <210> 560  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 560  
ggtagcatcc tgtaggacat 20

60 <210> 561  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 561  
gagcctttcc ttacgggtag 20

# ES 2 714 787 T3

5 <210> 562  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 562  
ctggagtct tctaggagcc 20

15 <210> 563  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 563  
cagctctttt actcccttg 20

25 <210> 564  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 564  
tgccattgt tcatcagct 20

35 <210> 565  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

45 <400> 565  
ctacttgcc attgttcat 20

50 <210> 566  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

55 <400> 566  
cctgacttac tgccattgt 20

60 <210> 567  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

65 <400> 567  
aaatgctga cttacttgcc 20

ES 2 714 787 T3

5 <210> 568  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

10 <400> 568  
 agcggaaatg cctgactac 20

15 <210> 569  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20 <400> 569  
 gctaaagcgg aaatgcctga 20

25 <210> 570  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF

<400> 570  
**Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Cys**  
 1 5 10

35 <210> 571  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF

<400> 571  
**Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Phe Phe Cys**  
 1 5 10

45 <210> 572  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 3, 6, 9, 12  
 <223> X = ácido 6-aminohexanoico

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 13  
 <223> X = beta alanina

ES 2 714 787 T3

<400> 572  
 Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Xaa  
 1 5 10

5 <210> 573  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 2, 5, 8, 11, 13  
 <223> X = ácido 6-aminohexanoico

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 14  
 <223> X = beta alanina

<400> 573  
 Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Xaa Xaa  
 1 5 10

25 <210> 574  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 1, 4, 7, 10, 13  
 <223> X = ácido 6-aminohexanoico

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 14  
 <223> X = beta alanina

<400> 574  
 Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Xaa  
 1 5 10

45 <210> 575  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 2, 4, 6, 8, 10, 12  
 <223> X = ácido 6-aminohexanoico

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 13  
 <223> X = beta alanina

ES 2 714 787 T3

<400> 575  
 Arg Xaa Arg Xaa Arg Xaa Arg Xaa Arg Xaa Arg Xaa Xaa  
 1 5 10

5

<210> 576  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF

15

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16  
 <223> X = ácido 6-aminohexanoico

20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 17  
 <223> X = beta alanina

25

<400> 576  
 Arg Xaa  
 1 5 10 15  
 Xaa

30

<210> 577  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35

<220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF

40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 2, 5, 8, 11, 14, 16  
 <223> X = ácido 6-aminohexanoico

45

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 17  
 <223> X = beta alanina

50

<400> 577  
 Arg Xaa Arg Xaa  
 1 5 10 15  
 Xaa

55

<210> 578  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60

<220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 1, 8, 13  
 <223> X = ácido 6-aminohexanoico

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 5, 11, 14  
 <223> X = beta alanina  
 5  
 <400> 578  
**Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Xaa Xaa**  
 1 5 10  
 <210> 579  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 10  
 <220>  
 <223> Transportador de péptidos para la administración intracelular de OMF  
 15  
 <400> 579  
**Ala Ser Ser Leu Asn Ile Ala**  
 1 5  
 20  
 <210> 580  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Péptido de penetración celular / Péptido de localización / Conjugados de OMF  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 8  
 <223> X = un aminoácido neutro C(=O) (CHR)<sub>n</sub> NH-, en el que n es 2 a 7 y cada R es independientemente H o metilo  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 9  
 <223> X = Beta alanina  
 35  
 <400> 580  
**Ala Ser Ser Leu Asn Ile Ala Xaa Xaa**  
 1 5  
 40  
 <210> 581  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Péptido de penetración celular / Péptido de localización / Conjugados de OMF  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 2, 8, 13, 22  
 <223> X = un aminoácido neutro C(=O) (CHR)<sub>n</sub> NH-, en el que n es 2 a 7 y cada R es independientemente H o metilo  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 5, 11, 14  
 <223> X = beta alanina  
 60

ES 2 714 787 T3

<400> 581  
 Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Xaa Xaa Ala Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Asn Ile Ala Xaa  
 20

5  
 <210> 582  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> Péptido de penetración celular / Péptido de localización / Conjugados de OMF

15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 8, 10, 16  
 <223> X = un aminoácido neutro C(=O) (CHR)n NH-, en el que n es 2 a 7 y cada R es independientemente H o metilo

20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 13, 19, 21  
 <223> Xaa = beta alanina

25  
 <400> 582  
 Ala Ser Ser Leu Asn Ile Ala Xaa Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Xaa Arg Xaa  
 20

30  
 <210> 583  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35  
 <220>  
 <223> Péptido de penetración celular / Péptido de localización / Conjugados de OMF

40  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 2, 8, 13  
 <223> X = un aminoácido neutro C(=O) (CHR)n NH-, en el que n es 2 a 7 y cada R es independientemente H o metilo

45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 5, 11, 14  
 <223> X = beta alanina

50  
 <400> 583  
 Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Xaa Xaa  
 1 5 10

55  
 <210> 584  
 <211> 29  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

60  
 <400> 584  
 ccactcagag ctcagatctt ctaactcc 29

<210> 585  
 <211> 25

## ES 2 714 787 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 5 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 585  
 gggatccagt atacttacag gctcc 25

10 <210> 586  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 586  
 20 ctccactca gagctcagat ctctaa 27

<210> 587  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 587  
 30 acatcaagga agatggcatt tctagtttg 30

<210> 588  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 35 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 588  
 40 ctccaacatc aaggaagatg gcatttctag 30

<210> 589  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 45 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 589  
 50 ttctgtccaa gcccggtga aatc 24

<210> 590  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 55 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 590  
 60 caccacat caccctcygt g 21

<210> 591  
 <211> 22

# ES 2 714 787 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 591  
 atcatctcgt tgatcctc aa 2

10  
 <210> 592  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20  
 <400> 592  
 acatcaagga agatggcatt tctag 25

25  
 <210> 593  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

30  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 593  
 accagagtaa cagtctgagt aggagc 26

35  
 <210> 594  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

40  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 594  
 tcaaggaaga tggcatttct 20

45  
 <210> 595  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

50  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 595  
 cctctgtgat ttataactt gat 23

55  
 <210> 596  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

60  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 596  
 atcattttt ctcatacctt ctgct 25

65  
 <210> 597  
 <211> 23

# ES 2 714 787 T3

<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 597  
ctcatacctt ctgcttgatg atc 23

10 <210> 598  
<211> 17  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 598  
tggcatttct agtttg 17

20 <210> 599  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 599  
ccagagcagg tacctccaac atc 23

<210> 600  
<211> 24  
<212> ADN  
35 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40 <400> 600  
tggtcagctt ctgtagcca ctga 24

<210> 601  
<211> 20  
45 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

50 <400> 601  
tttgttctt tctgagaaac 20

<210> 602  
<211> 19  
55 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
60 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 602  
cgccgcatt tctcaacag 19

65 <210> 603  
<211> 20

## ES 2 714 787 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 603  
 atctgtcaaa tcgcctgcag      20

10  
 <210> 604  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20  
 <400> 604  
 tgttttgag gattgctgaa      20

<210> 605  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

25  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30  
 <400> 605  
 gctgaattat ttctcccc      19

<210> 606  
 <211> 17  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

35  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40  
 <400> 606  
 gcccaatgcc atcctgg      17

45  
 <210> 607  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

50  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 607  
 ccaatgcat cctggagttc ctgta      26

55  
 <210> 608  
 <211> 31  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

60  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 608  
 cattcaactg ttgcctccgg ttctgaaggt g      31

65  
 <210> 609  
 <211> 25

# ES 2 714 787 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 609  
 ctgaagggtg tctgtactt catcc      25

10  
 <210> 610  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 610  
 ctgttgccctc cggttctg      18

20  
 <210> 611  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

25  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 611  
 attcttcaa ctagaataaa ag      22

30  
 <210> 612  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

35  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40  
 <400> 612  
 gccatcctgg agttcctgta agatacctaaa      30

45  
 <210> 613  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

50  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 613  
 ccaatgcat cctggagttc ctgtaagata      30

55  
 <210> 614  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

60  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 614  
 gccgctgccc aatgcatcc tggagttcct      30

65  
 <210> 615  
 <211> 30

# ES 2 714 787 T3

<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 615  
gttgccgct gcccaatgcc atcctggagt 30

10 <210> 616  
<211> 30  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 616  
caacagttg ccgctgccca atgccatcct 30

20 <210> 617  
<211> 30  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30 <400> 617  
ctgacaacag ttgccgctg cccaatgccca 30

<210> 618  
<211> 30  
<212> ADN  
35 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40 <400> 618  
tgttctgaca acagttgccc gctgcccaat 30

<210> 619  
<211> 30  
45 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

50 <400> 619  
caatgttctg acaacagttt gccgctgccc 30

<210> 620  
<211> 30  
55 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
60 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 620  
cattcaatgt tctgacaaca gttgccgct 30

65 <210> 621  
<211> 30

# ES 2 714 787 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 621  
 tatttctcc ccagttgcat tcaatgttct      30

10

<210> 622  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 622  
 gctgaattat ttctcccca gttgattca      30

20

<210> 623  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

25

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30

<400> 623  
 ggattgctga attattctt ccccagttgc      30

35

<210> 624  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40

<400> 624  
 ttgaggatt gctgaattat ttctcccca      30

45

<210> 625  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

50

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 625  
 gtacttcac ccactgattc tgaattctt      30

55

<210> 626  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

60

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 626  
 tctgtactt catccactg attctgaatt      30

65

<210> 627  
 <211> 30

## ES 2 714 787 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 627  
 tgttctgta cttcatccca ctgattctga      30

10  
 <210> 628  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

20  
 <400> 628  
 cggttctgaa ggtgtcttg tacttcatcc      30

<210> 629  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

25  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

30  
 <400> 629  
 ctccggttct gaaggtgtc ttgtactca      30

<210> 630  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

35  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

40  
 <400> 630  
 tgctccggt tctgaaggtg ttctgtact      30

45  
 <210> 631  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

50  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 631  
 tgttgctcc ggttctgaag gtgttctgt      30

55  
 <210> 632  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

60  
 <220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 632  
 aactgtgcc tccggtctg aaggtgtct      30

65  
 <210> 633  
 <211> 30

## ES 2 714 787 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 633  
 ttcaactgtt gcctccggtt ctgaagggtg      30

10

<210> 634  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 634  
 taaagctctg gaaacctgaa aggaa      25

20

<210> 635  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

25

<220>  
 <223> Secuencia antisentido con diana en sitio de corte y empalme de la distrofina humana preprocesada

<400> 635  
 ttcagcttct gtaagccagg caaga      25

30

<210> 636  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

35

<220>  
 <223> Oligómero antisentido

40

<400> 636  
 ggccaaacct cggcttacct gaaat      25

45

<210> 637  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50

<220>  
 <223> transporte de péptido rico en argininas

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> 1, 3, 4, 7, 9, 10  
 <223> Xaa = K, R o análogo de arginina

55

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 8, 2, 8  
 <223> Xaa = un aminoácido neutro C(=O) (CHR)<sub>n</sub> NH-, en el que n es 2 a 7 y cada R es independientemente H o metilo

60

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> 5, 6, 11, 12  
 <223> Xaa = un alfa-aminoácido con una cadena lateral aralquilo neutra

65

<400> 637  
 Xaa  
 1 5 10

5 <210> 638  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> transporte de péptido rico en argininas

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 2, 6, 8, 12  
 <223> Xaa = un aminoácido neutro C(=O) (CHR)<sub>n</sub> NH-, en el que n es 2 a 7 y cada R es independientemente H o metilo

20 <400> 638  
 Arg Xaa Arg Arg Arg Xaa Arg Xaa Arg Arg Arg Xaa  
 1 5 10

25 <210> 639  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> 3, 5, 9  
 <223> Xaa = un aminoácido neutro C(=O) (CHR)<sub>n</sub> NH-, en el que n es 2 a 7 y cada R es independientemente H o metilo

35 <400> 639  
 Arg Arg Xaa Arg Xaa Arg Arg Arg Xaa  
 1 5

40 <210> 640  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> cebador de PCR

50 <400> 640  
 ccagagcttt acctgagaaa caag 24

55 <210> 641  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

60 <220>  
 <223> cebador de PCR

<400> 641  
 ccagccactc agccagtgaa g 21

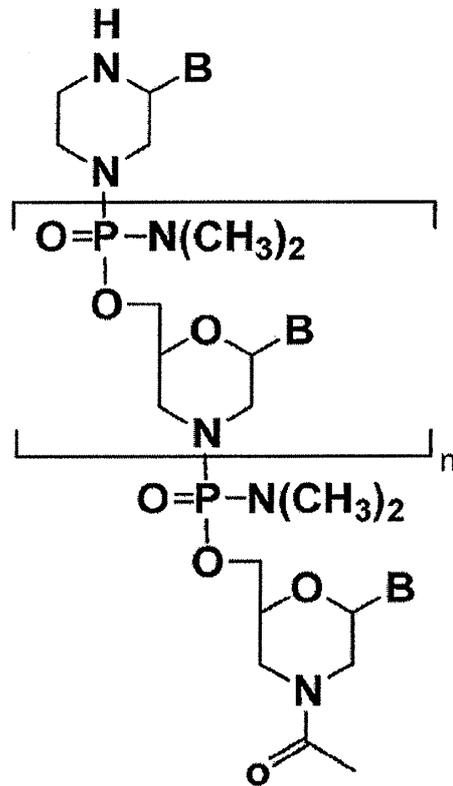
<210> 642  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

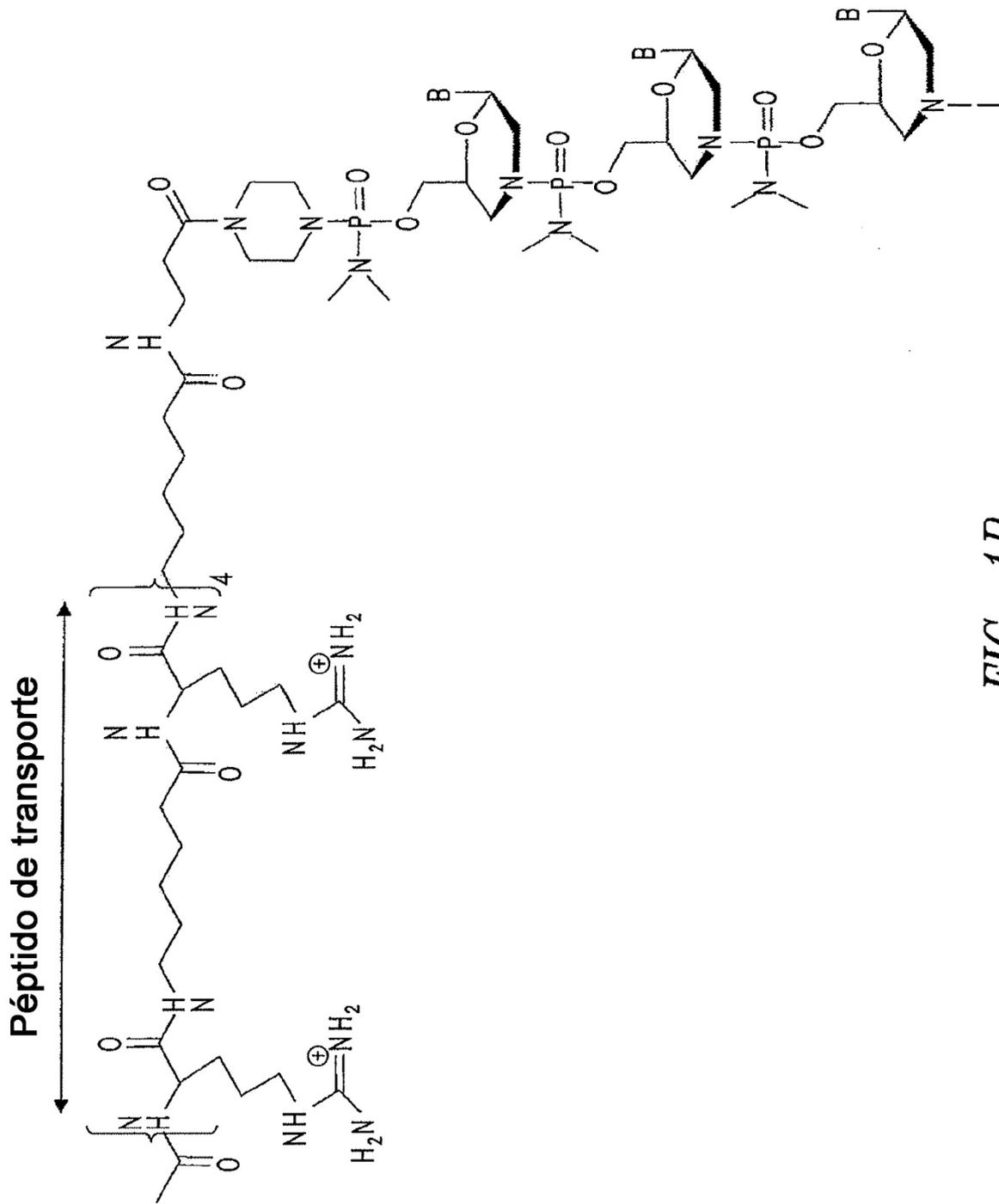
<220>  
 <223> cebador de PCR  
 5 <400> 642  
 cgatccgtaa tgattgtct agcc 24  
 <210> 643  
 <211> 24  
 10 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> cebador de PCR  
 15 <400> 643  
 catttcattc aactgttgcc tccg 24  
 <210> 644  
 <211> 21  
 20 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> cebador de PCR  
 25 <400> 644  
 caatgctcct gacctctgtg c 21  
 <210> 645  
 <211> 22  
 30 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> cebador de PCR  
 35 <400> 645  
 gtctacaaca aagctcaggt cg 22  
 <210> 646  
 <211> 25  
 40 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> cebador de PCR  
 <400> 646  
 50 gcaatgttat ctgcttcctc caacc 25  
 <210> 647  
 <211> 22  
 55 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> cebador de PCR  
 60 <400> 647  
 gctcttttcc aggttcaagt gg 22  
 <210> 648  
 <211> 23  
 65 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> cebador de PCR  
 5 <400> 648  
 ctggacaga acttaccgac tgg 23  
 <210> 649  
 <211> 21  
 10 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> cebador de PCR  
 15 <400> 649  
 gcaggattg gaacagaggc g 21  
 <210> 650  
 <211> 23  
 20 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> cebador de PCR  
 25 <400> 650  
 catctacatt tgtctgccac tgg 23  
 <210> 651  
 <211> 23  
 30 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> cebador de PCR  
 35 <400> 651  
 gtttctcca aagcagcctc tcg 23  
 40

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Oligonucleótido antisentido que contiene 20 a 35 subunidades morfolino unidas mediante enlaces intersubunidad que contienen fósforo que unen un nitrógeno de morfolino de una subunidad con un carbono exocíclico 5' de una subunidad contigua, que comprende una secuencia de bases SEC ID nº 382, o una secuencia que presenta una identidad de secuencias con la misma de por lo menos 80%, en la que las bases de timina son opcionalmente bases de uracilo, y en la que el oligonucleótido antisentido es complementario al pre-ARNm de la distrofina humana, induciendo la omisión del exón 52, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 2. Oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en el que el oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo contiene 20 a 25 subunidades morfolino.
- 15 3. Oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1 o 2, que presenta bases uracilo (U) en lugar de bases timina (T).
- 20 4. Oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende una base 5-metilcitosina.
5. Oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según las reivindicaciones 1 a 4, en el que el oligonucleótido se conjuga con una cadena de polietilenglicol.
- 25 6. Oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según las reivindicaciones 1 a 4, en el que el oligonucleótido se conjuga con una fracción trietilenglicol.
7. Oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según las reivindicaciones 1 a 4, en el que el oligonucleótido se conjuga con una cadena de polietilenglicol unida mediante una fracción piperazinilo sustituida.
- 30 8. Oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según las reivindicaciones 1 a 4, en el que el oligonucleótido antisentido se conjuga con una cadena de trietilenglicol unida mediante una fracción piperazinilo sustituida.
- 35 9. Composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un portador y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 40 10. Oligonucleótido antisentido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o la composición según la reivindicación 9, para la utilización en el tratamiento de la distrofia muscular.
- 45 11. Oligonucleótido antisentido o composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 10, en el que la distrofia muscular es la distrofia muscular de Duchenne (DMD).
- 50 12. Oligonucleótido antisentido o composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 10, en el que la distrofia muscular es la distrofia muscular de Becker (DMB).

*FIG. 1A*



*FIG. 1B*

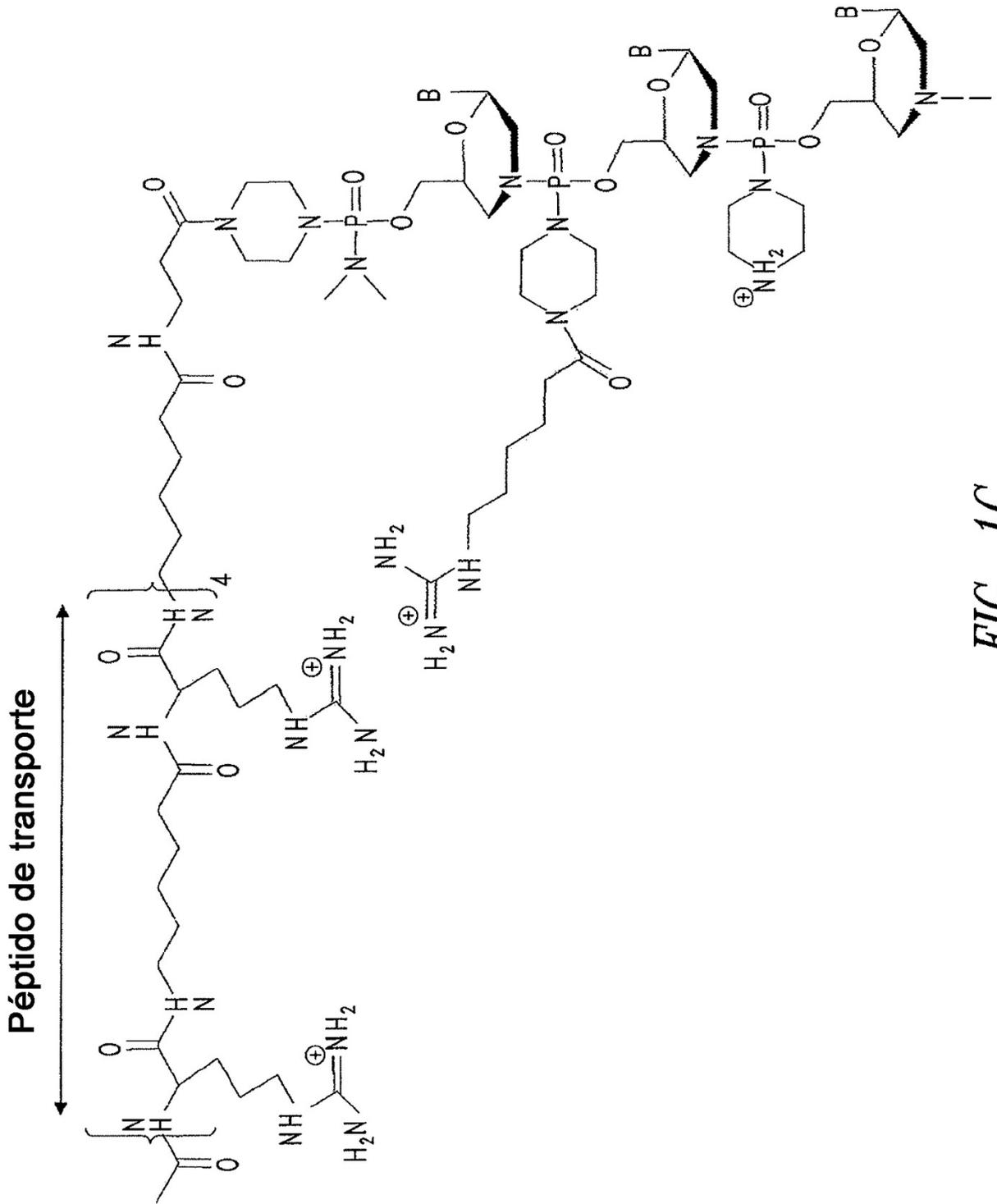
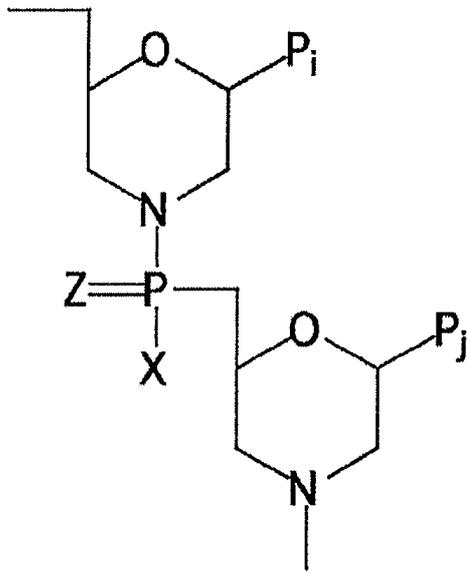
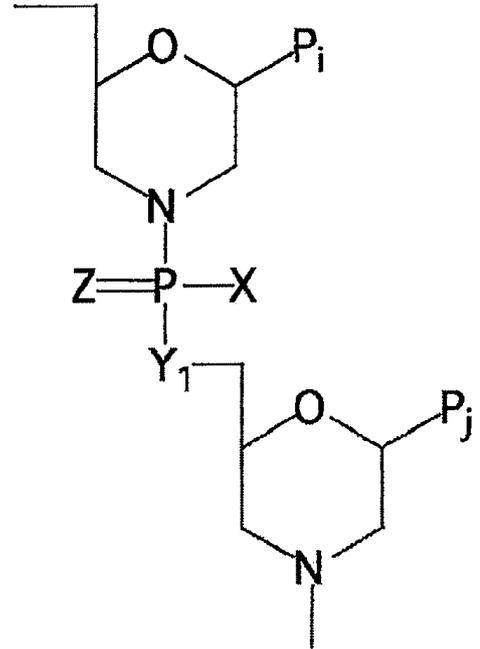


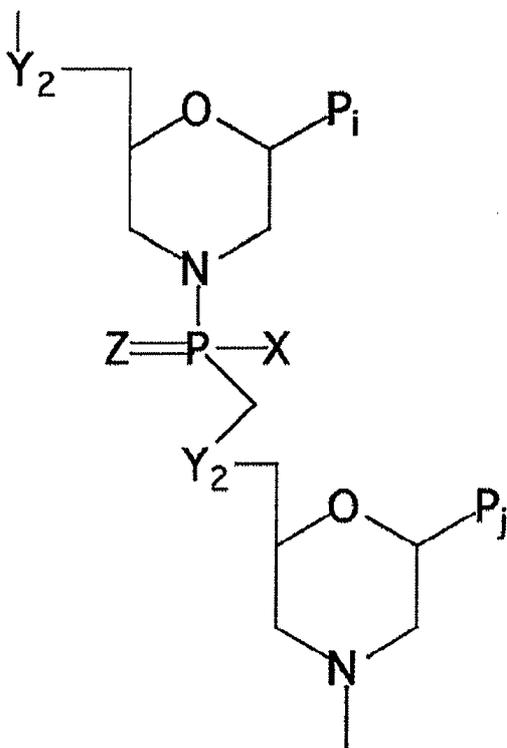
FIG. 1C



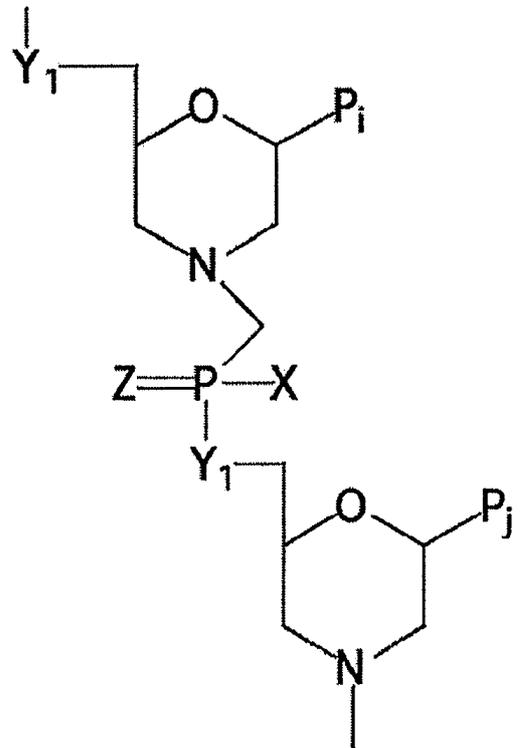
*FIG. 1D*



*FIG. 1E*



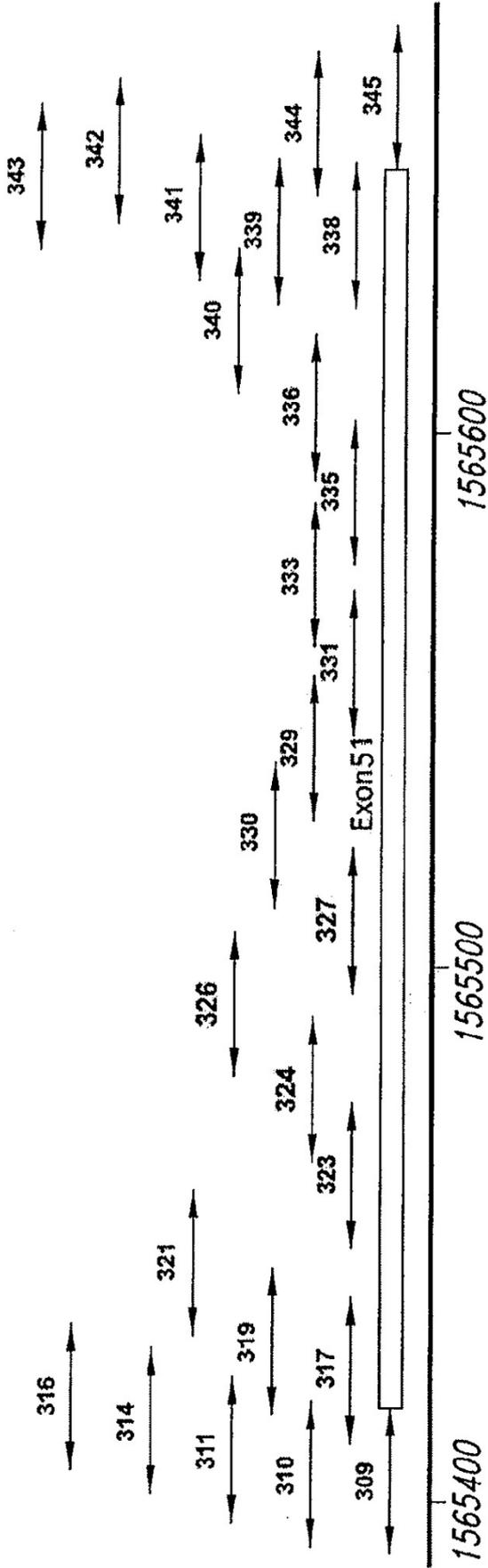
*FIG. 1F*



*FIG. 1G*

# Oligos del escaneo del exón 51 de la distrofina

DMD\_Gen.1756 -



SEC ID n° de oligos mostrados - las SEC ID n° 324, 326 y 327 fueron las más eficaces.

*FIG. 2A*

# Exón 51S.3 (RD)

Síntesis de alta pureza, 3,0 µM, células RD

Oligo	Nombre, SEC ID nº	Lote
NG-07-1160	AVI-5658; 588	09MY11-R(E4)
NG-09-0053	053; 324	09JNJ12-R(A4)
NG-09-0054	054; 326	09JNJ12-R(B4)
NG-09-0055	055; 327	09JNJ12-R(E4)

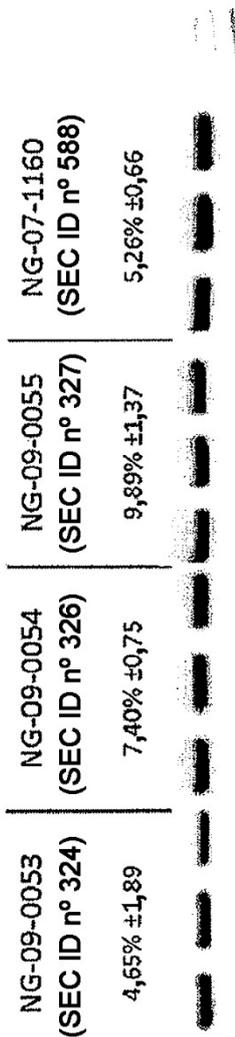


FIG. 2B

# 51MCS (Cribado de competidores de células musculares)

Síntesis de alta pureza, 3,0 µM, células primarias de músculo esquelético humano

Oligo	Nombre, SEC ID nº	Lote
NG-07-1160	AVI-5658; 588	09MY11-R(E4)
NG-09-0053	053; 324	09JNJ12-R(A4)
NG-09-0054	054; 326	09JNJ12-R(B4)
NG-09-0055	055; 327	09JNJ12-R(E4)
NG-08-0835	h51AON1: 594	09JL07-R(A1)

NG-09-0053 SEC ID nº 324	NG-09-0054 SEC ID nº 326	NG-09-0055 SEC ID nº 327	No tx	NG-07-1160 SEC ID nº 588	NG-08-0835 SEC ID nº 594
1,02% ±0,30	1,12% ±0,08	1,30% ±0,40	0%	1,10% ±0,13	0,14% ±0,07

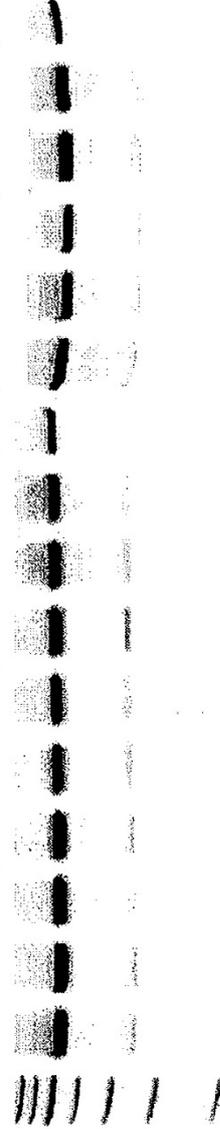


FIG. 2C

# Oligos de exón 51 de distrofina seleccionados

Gen 1756 de DMD

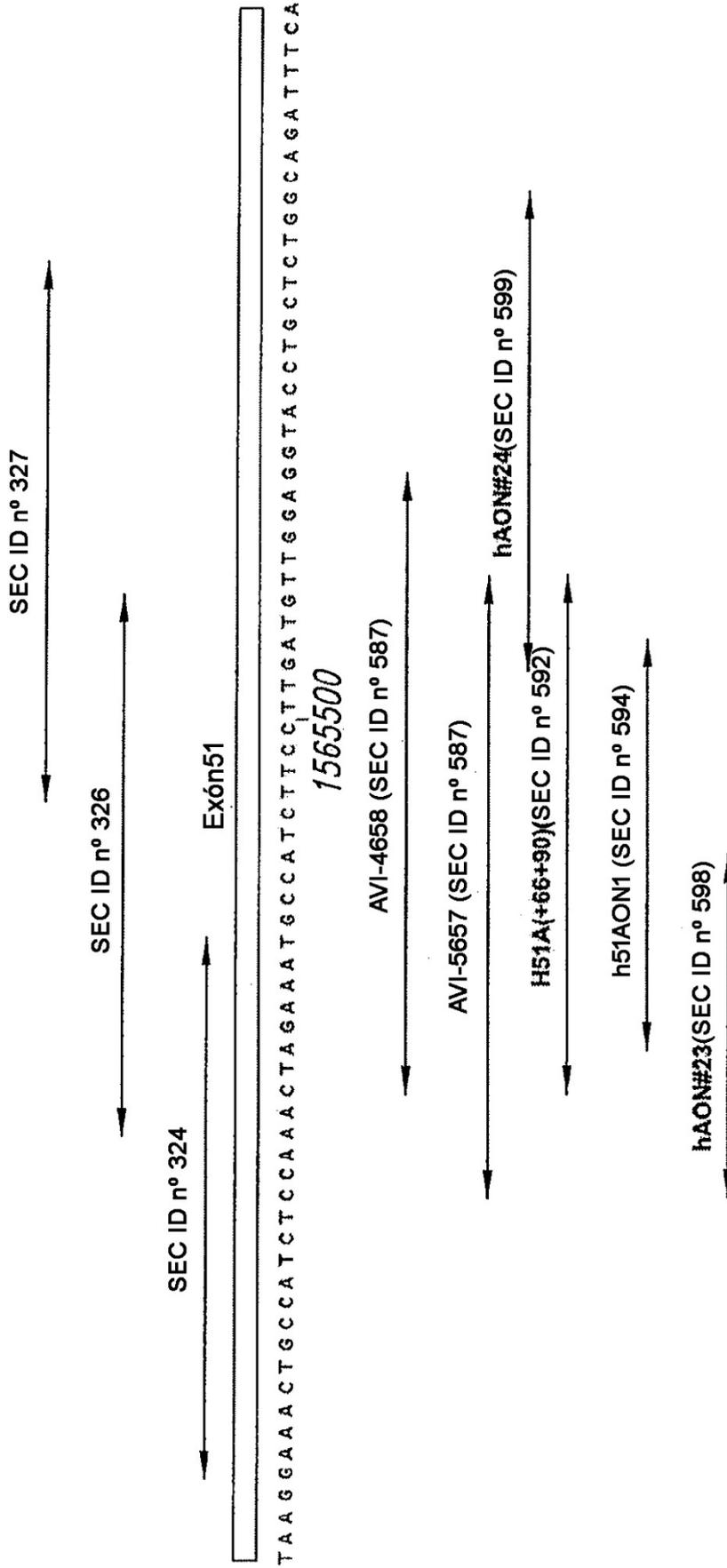


FIG. 2D

# Oligos de escaneo del exón 50 de la distrofina

Gen 1756 de DMD

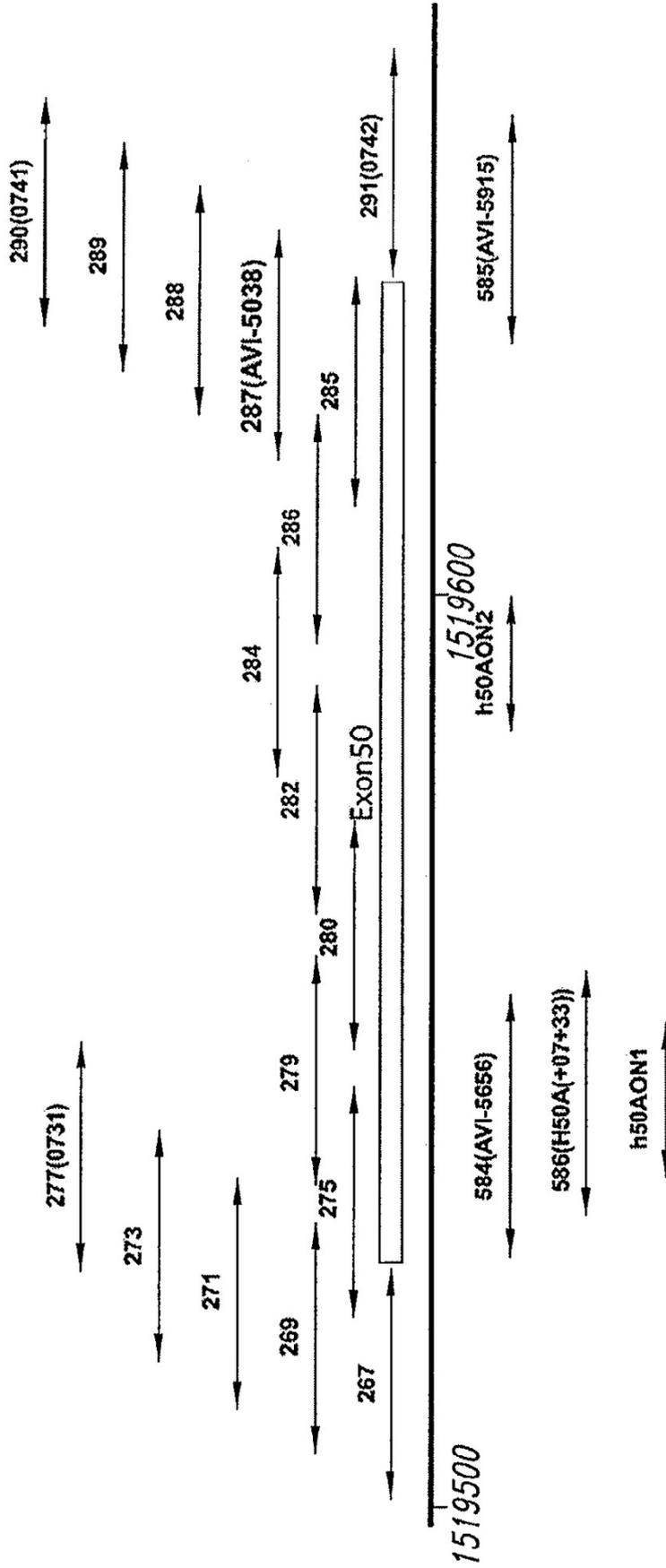
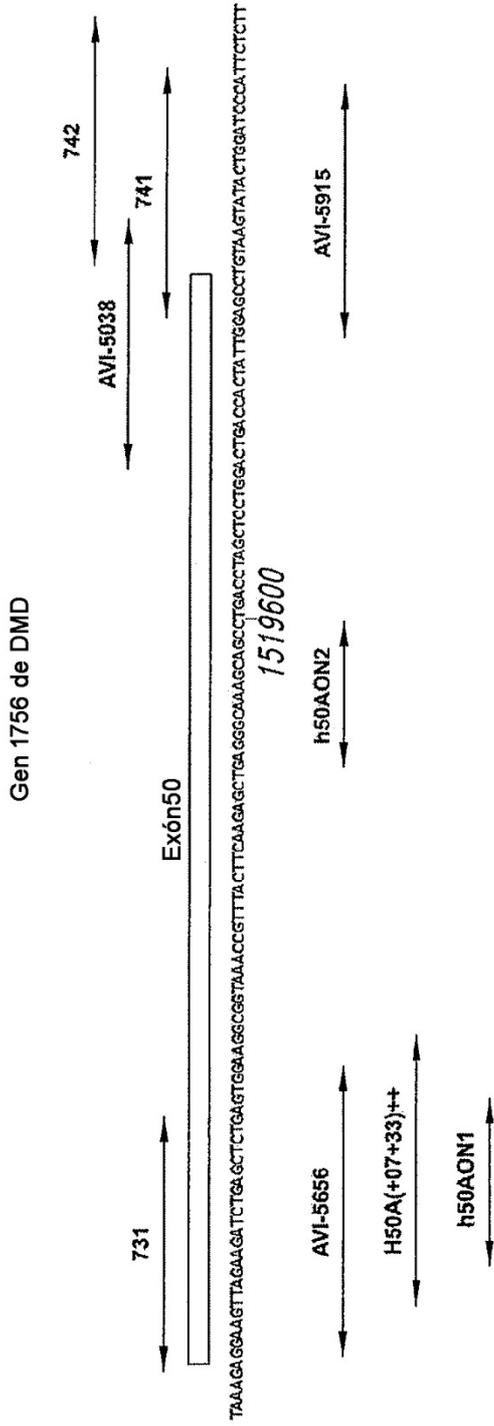


FIG. 3A

### Oligos seleccionados del exón 50 de la distrofina



Compuesto	EC <sub>50</sub> (micromolar)*
AVI-5656 (SEC ID n° 584)	0,921
AVI-5915 (SEC ID n° 585)	3,693
NG-08-0731 (SEC ID n° 277)	1,741
AVI-5038 (SEC ID n° 287)	0,966
NG-08-0741 (SEC ID n° 290)	1,836
NG-08-0742 (SEC ID n° 291)	2,402

\* Determinado en estudios de determinación de dosis en células RD  
AVI n° 00453 - 02FEB2009

FIG. 3B

# Oligos del escaneo del exón 53 de la distrofina

Gen 1756 de DMD

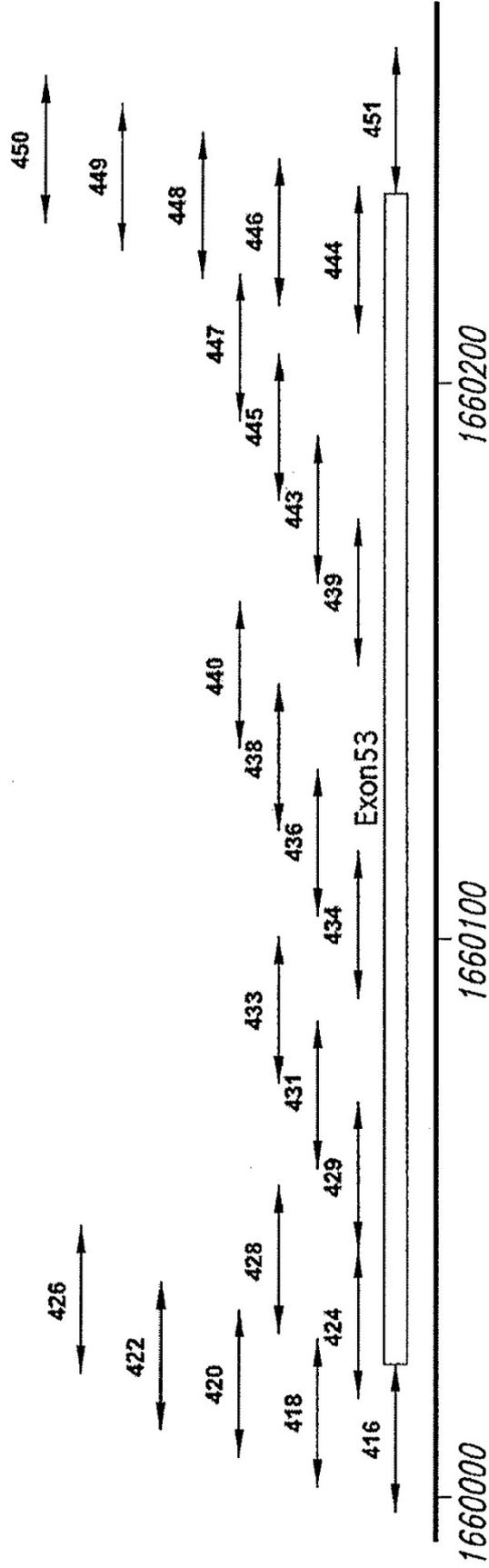


FIG. 4A

# Oligos seleccionados del exón 53 de la distrofina

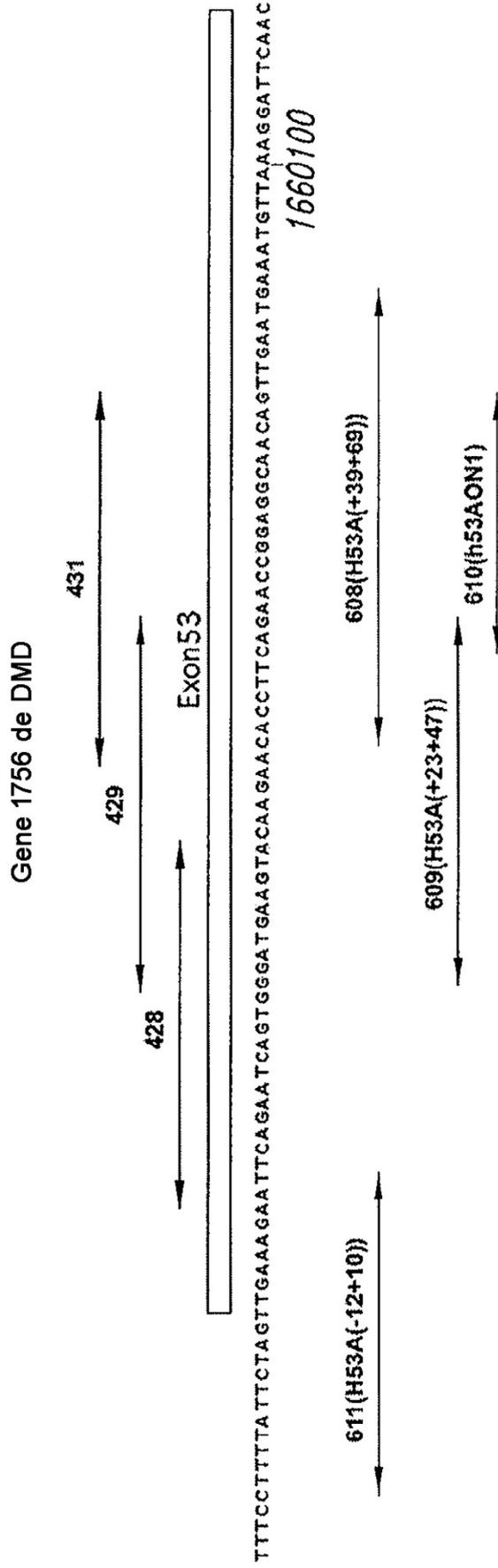


FIG. 4B

# Exón 53 DR.2

Síntesis de alta pureza (1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0 µM) Células RD

NG-0746 09AU11-R(E5) (SEC ID nº 422)



FIG. 4C

# Exón 53 DR.2

Síntesis de alta pureza (1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0 µM) Células RD

NG-0749 09AU11-R(A7)(SEC ID nº 428)



FIG. 4D

# Exón 53 DR.2

Síntesis de alta pureza (1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0 µM) Células RD

NG-0750 09AU11-R(C7) (SEC ID nº 429)

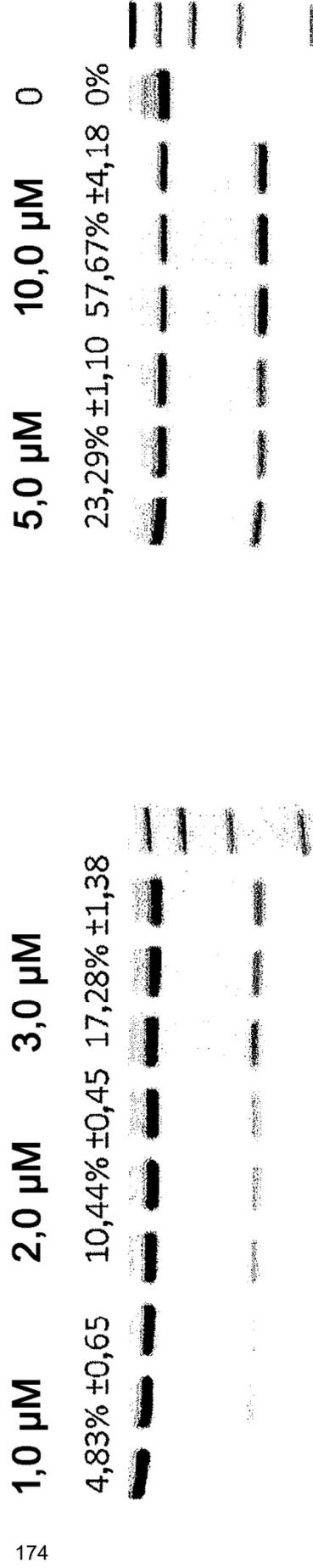


FIG. 4E

# Exón 53 DR.2

Síntesis de alta pureza (1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0 µM) Células RD

NG-0751 09AU11-J(E7) (SEC ID nº 431)

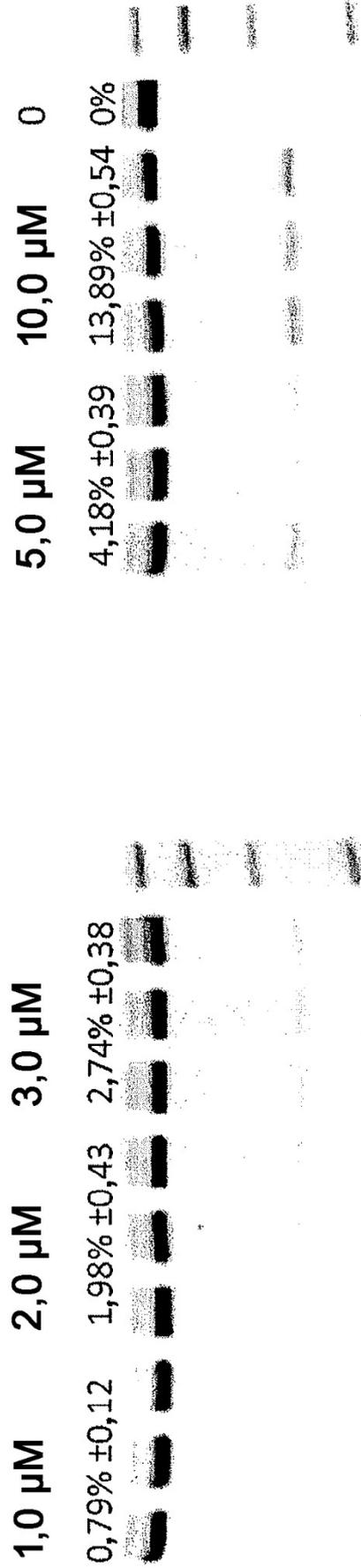


FIG. 4F

## Resumen de determinación de dosis de exón 53 en células RD

### Porcentaje de exones omitidos

Tratamiento ( $\mu\text{M}$ )	746 (SEC ID n° 422)	749 (SEC ID n° 428)	750 (SEC ID n° 429)	751 (SEC ID n° 431)
1,0	0,00	1,05	4,83	0,79
2,0	0,00	1,72	10,44	1,98
3,0	0,00	2,40	17,28	2,74
5,0	0,54	2,62	23,29	4,18
10	3,53	4,63	57,67	13,89

EC<sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )      NA      72,2      9,3      25,3

*FIG. 4G*

# Exón 53 CS (Cribado de competidores)

Síntesis de alta pureza, 3,0 µM, células RD

<u>Oligo</u>	<u>Nombre, SEC ID</u>	<u>Lote</u>
NG-09-0490	H53A(+39+69); 608	09AU18-J(A1)
NG-08-0750 (W)	H53A(+23+47); 609	09-AU18-J(B1)
NG-09-0559	h53AONI; 610	09AU18-J(C1)
NG-09-0560	H53A(-12+10); 611	09AU18-J(D1)
NG-08-0750	008; 429	09AU11-R(C7)

490	750 (W)	750	559	560	750
SEC ID n° 508	SEC ID n° 609	SEC ID n° 429	SEC ID n° 610	SEC ID n° 611	SEC ID n° 429
5,21% ±1,39	20,09% ±1,00	No cuantificado	1,03% ±0,10	1,49% ±0,21	16,49% ±1,35
0	0	0	0	0	0

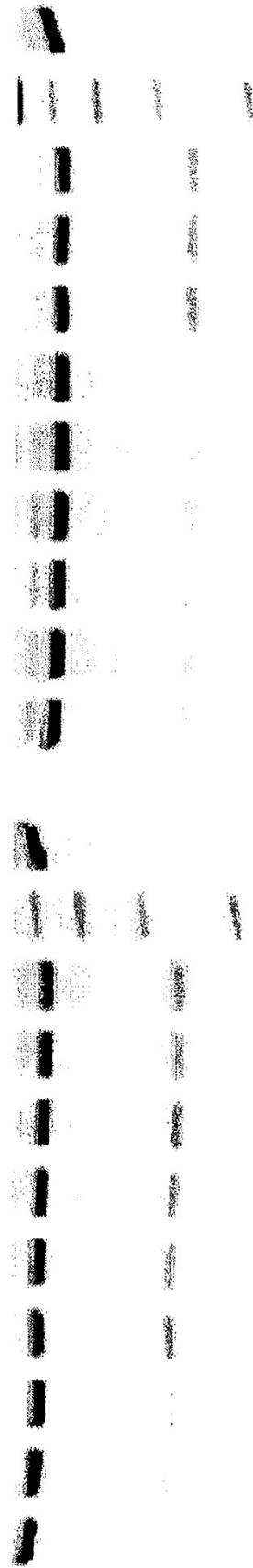


FIG. 4H

# Exón 53 MCS (Cribado de competidores en células musculares)

Síntesis de alta pureza, 3,0 µM, Células primarias de músculo esquelético humano

<u>Oligo</u>	<u>Nombre, SEC ID</u>	<u>Lote</u>
NG-09-0490	H53A(+39+69); 608	09AU18-J(A1)
NG-08-0750 (W)	H53A(+23+47); 609	09-AU18-J(B1)
NG-09-0559	h53AON1; 610	09AU18-J(C1)
NG-09-0560	H53A(-12+10); 611	09AU18-J(D1)
NG-08-0750	008; 429	09AU11-R(C7)

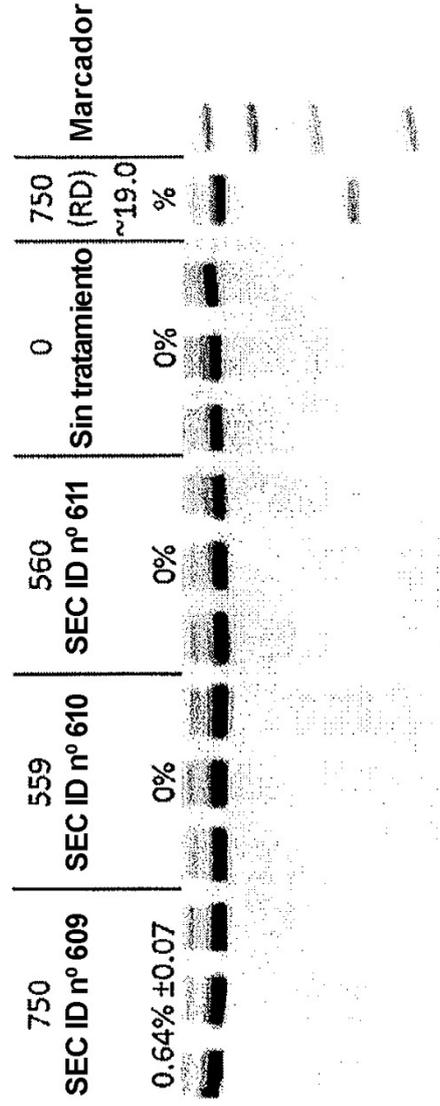


FIG. 4I

# Oligos de escaneo del exón 44 de la distrofina

Gen 1756 de DMD

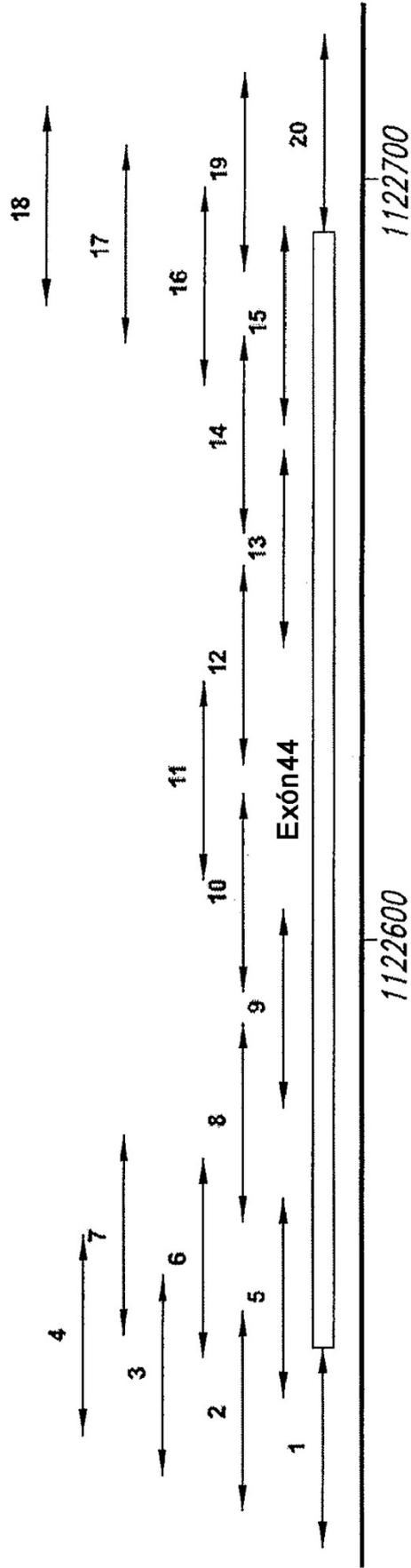


FIG. 5A

# Oligos seleccionados del exón 44 de la distrofina

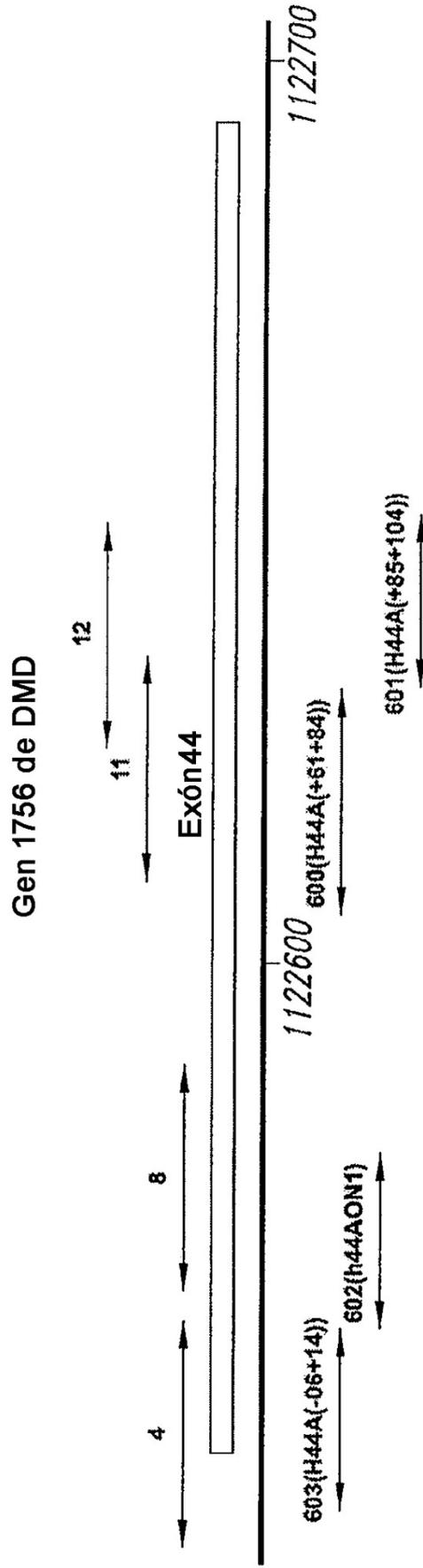


FIG. 5B

# Exón 44 DR.2 (Rango de dosis)

Síntesis de alta pureza (0,1, 0,3, 1,0, 3,0, 10,0 µM) Células RD

NG-08-0792 09AU11-J(A2) (SEC ID nº 4)

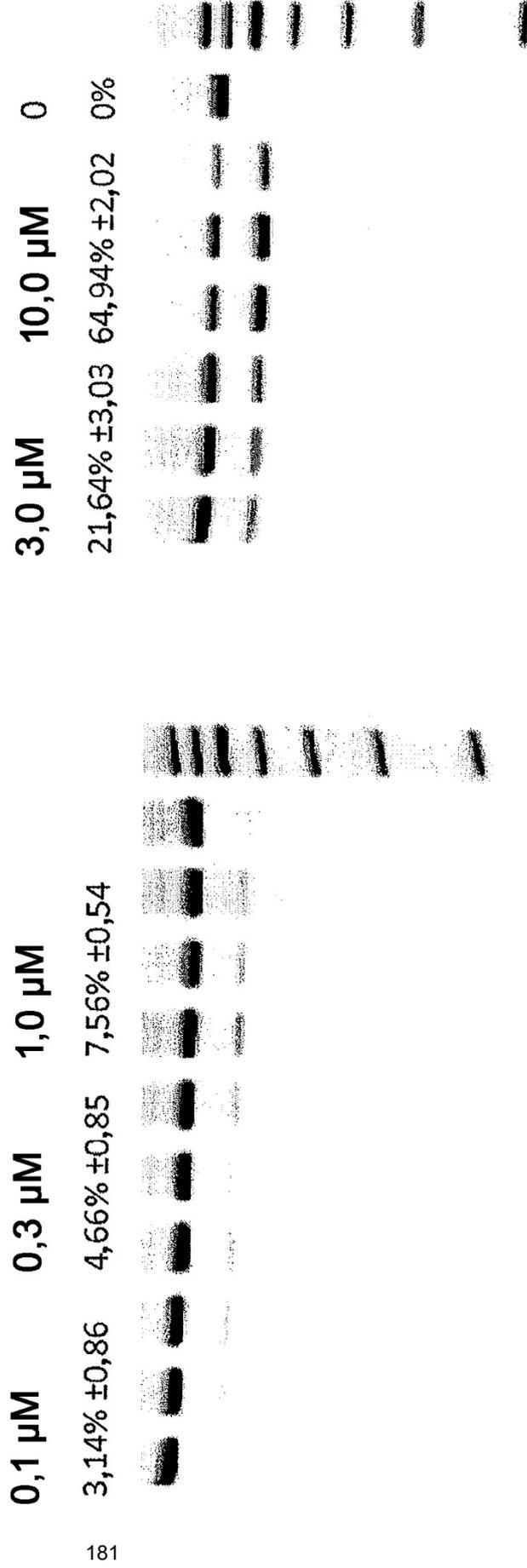


FIG. 5C

# Exón 44 DR.2

Síntesis de alta pureza (0,1, 0,3, 1,0, 3,0, 10,0 µM) Células RD

NG-08-0796 09AU11-J(B2) (SEC ID nº 8)

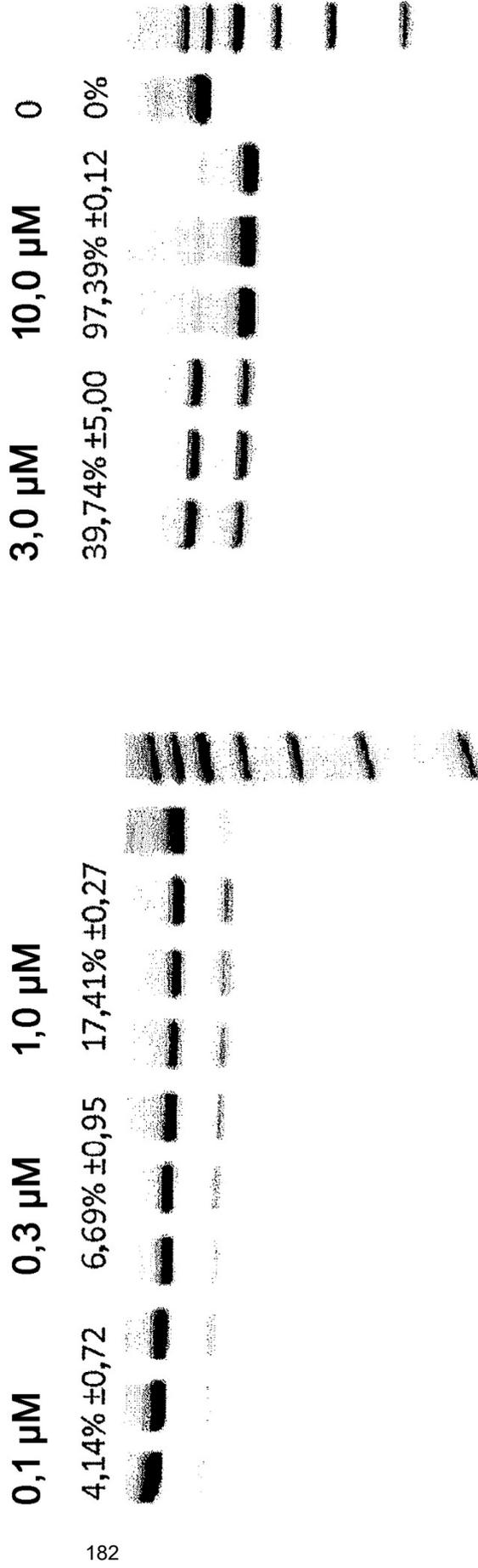


FIG. 5D

# Exón 44 DR.2

Síntesis de alta pureza (0,1, 0,3, 1,0, 3,0, 10,0 µM) Células RD

NG-08-0799 09AU11-J(C2) (SEC ID nº 11)

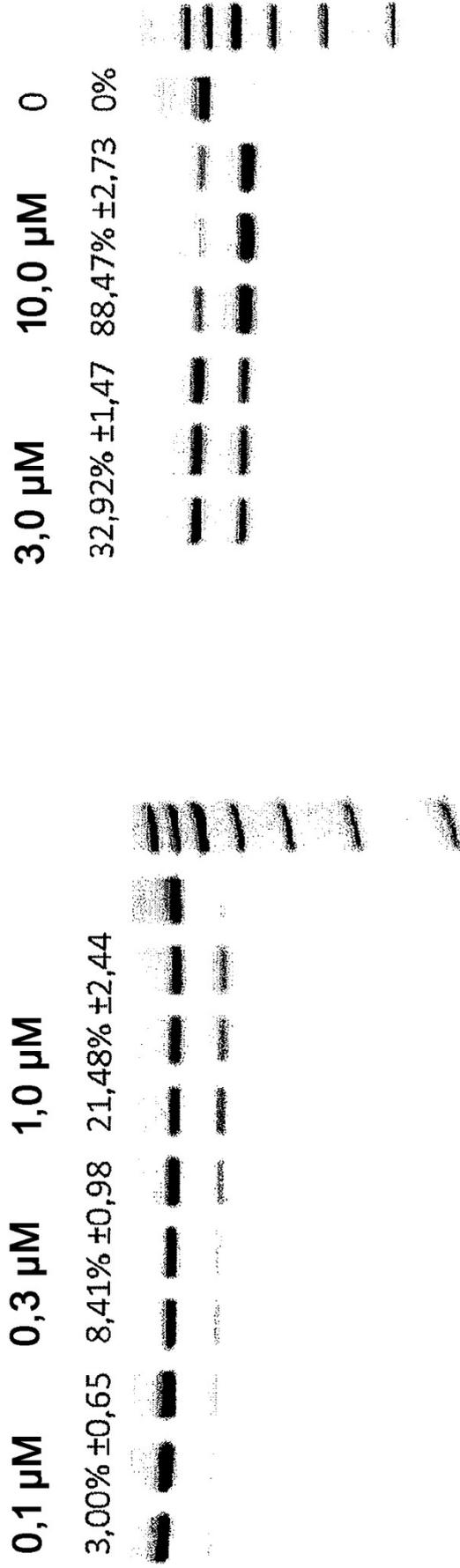


FIG. 5E

# Exón 44 DR.2

Síntesis de alta pureza (0,1, 0,3, 1,0, 3,0, 10,0 µM) Células RD

NG-08-0800 09AU11-J(D2) (SEC ID nº 12)

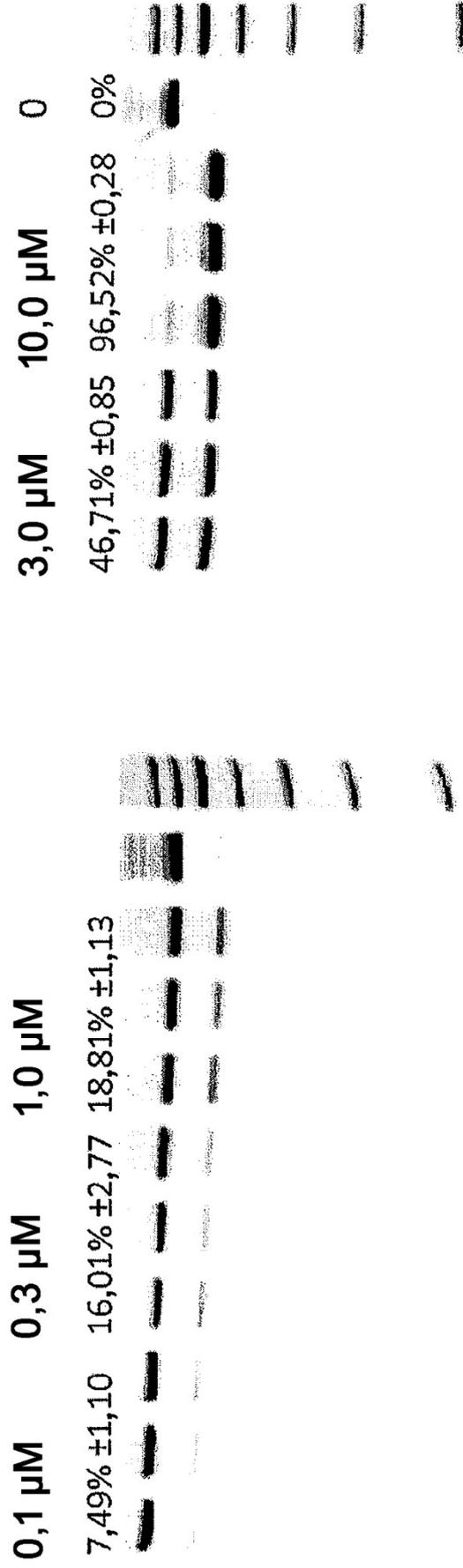


FIG. 5F

# Exón 44 DR.2

Síntesis de alta pureza (0,1, 0,3, 1,0, 3,0, 10,0 µM) Células RD

NG-0801 09AU11-J(E2)(SEC ID nº 13)

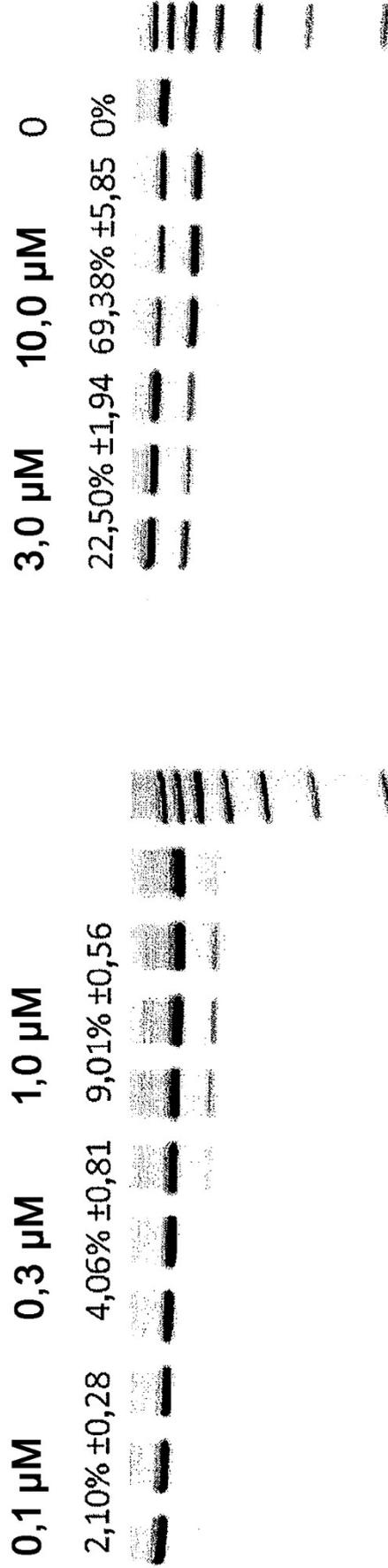


FIG. 5G

# Resumen de rango de dosis de exón 44 en células R

## Porcentaje con omisión exónica

Tratamiento (µM)	792 (SEC ID nº 4)	796 (SEC ID nº 8)	799 (SEC ID nº 11)	800 (SEC ID nº 12)	801 (SEC ID nº 13)
0,1	3,14	4,14	3,00	7,49	2,10
0,3	4,66	6,69	8,41	16,01	4,06
1	7,56	17,41	21,48	18,81	9,01
3	21,64	39,74	32,92	46,71	22,50
10	64,94	97,39	88,47	96,52	69,38

EC<sub>50</sub> (µM)      7,166      3,024      3,594      2,795      6,277

*FIG. 5H*

# Exón 44 CS (Cribado de competidores)

Síntesis de alta pureza, 3,0 µM, Células RD

<u>Oligo</u>	<u>Nombre, ID de sec.</u>	<u>Lote</u>
NG-09-0561	H44A(+61+84); 600	09AU18-J(E1)
NG-09-0562	H44A(+85+104); 601	09AU18-J(F1)
NG-09-0563	h44AON1; 602	09AU18-J(A2)
NG-09-0564	H44A(-06+14); 603	09AU18-J(B2)
NG-08-0800	012; 12	09AU11-J(D2)

561	562	563	564	800
SEC ID nº	SEC ID nº	SEC ID nº	SEC ID	SEC ID nº
600	601	602	nº 603	12
				PM 0
44,4% ±4,22	20,4% ±0,84	94,0% ±0,32	97,1%	47,5% ±2,05
	No cuantificado			0%



FIG. 5I

# Exón 44 MCS (Cribado de competidores de célula muscular)

Síntesis de alta pureza, 3,0 µM, Células primarias de músculo esquelético humano

<u>Oligo</u>	<u>Nombre, ID de sec.</u>	<u>Lote</u>
NG-09-0561	H44A(+61+84); 600	09AU18-J(E1)
NG-09-0562	H44A(+85+104); 601	09AU18-J(F1)
NG-09-0563	h44AON1; 602	09AU18-J(A2)
NG-09-0564	H44A(-06+14); 603	09AU18-J(B2)
NG-08-0800	012; 12	09AU11-J(D2)

*inadecuado incluir NG-09-0564 en el cribado*

800	561	562	563	800	Sin tratamiento	800 (RD)
8,86% ±0,57	2,13% ±0,75	0%	6,42% ±0,54	No cuantificado	0%	47,53% ±2,05



FIG. 5J

# Oligos del escaneo del exón 45 de la distrofina

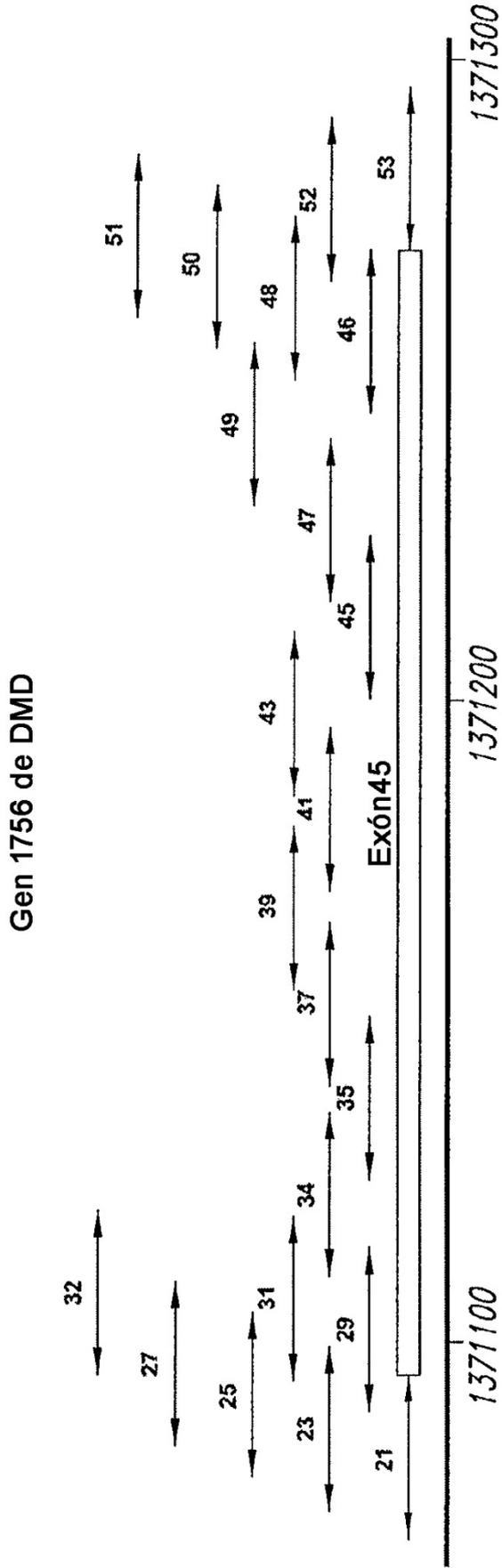


FIG. 6A

# Oligos seleccionados del exón 45 de la distrofina

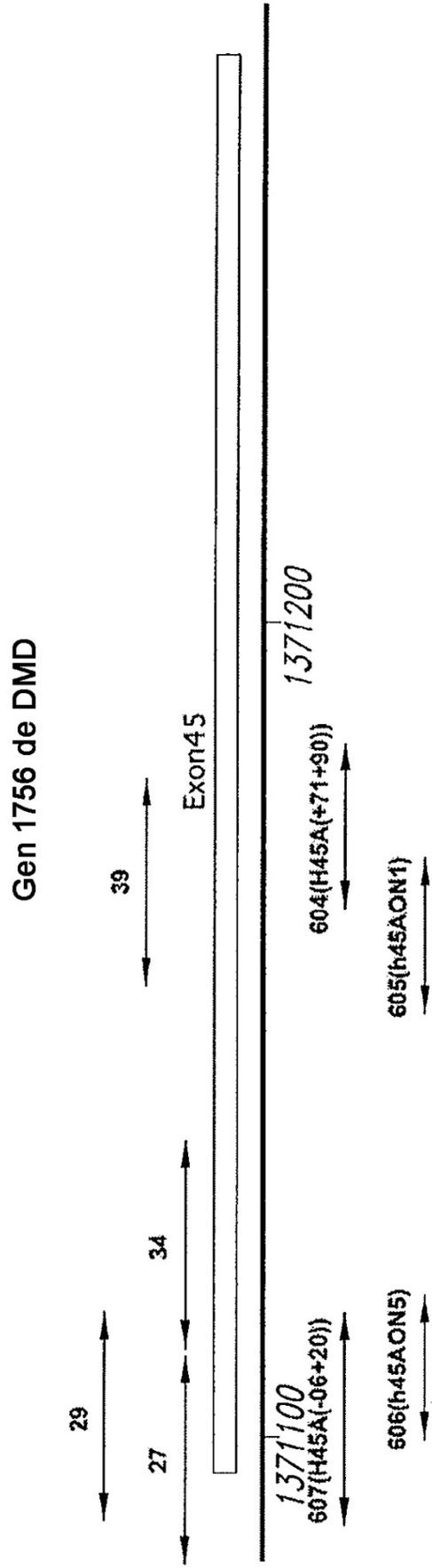


FIG. 6B

# Exón 45 DR.2

Síntesis de alta pureza (1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0 µM) Células RD

NG-0770 09AU11-J(F2)(SEC ID n° 27)

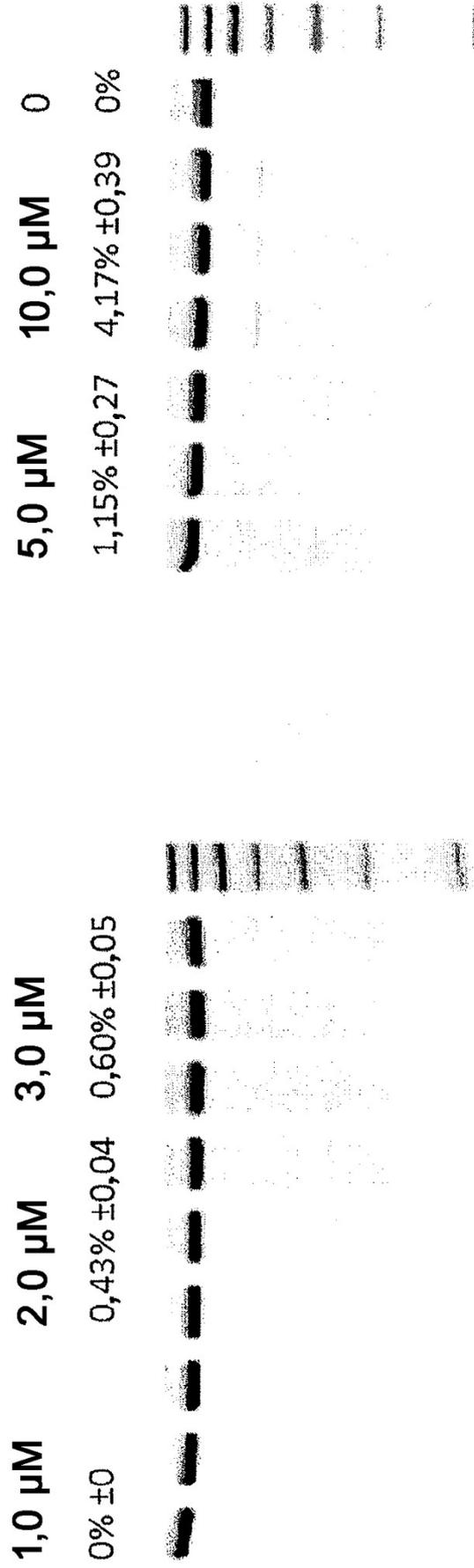


FIG. 6C

# Exón 45 DR.2

Síntesis de alta pureza (1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0 µM) Células RD

NG-0771 09AU11-J(A4)(SEC ID nº 29)

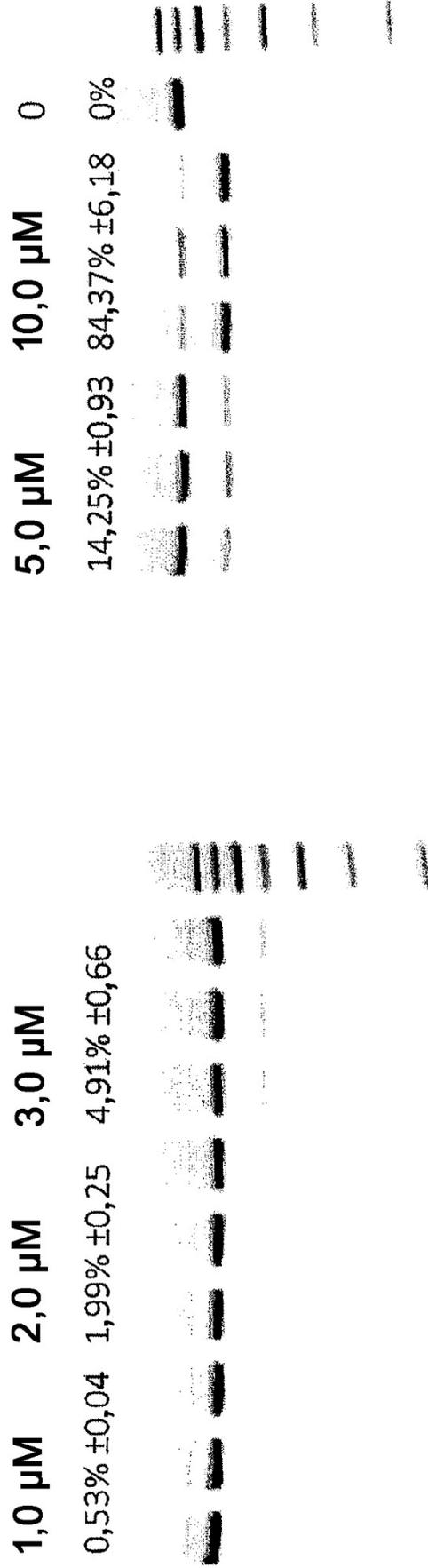


FIG. 6D

# Exón 45 DR.2

Síntesis de alta pureza (1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0  $\mu\text{M}$ ) Células RD

NG-0774 09AU11-J(B4) (SEC ID nº 34)

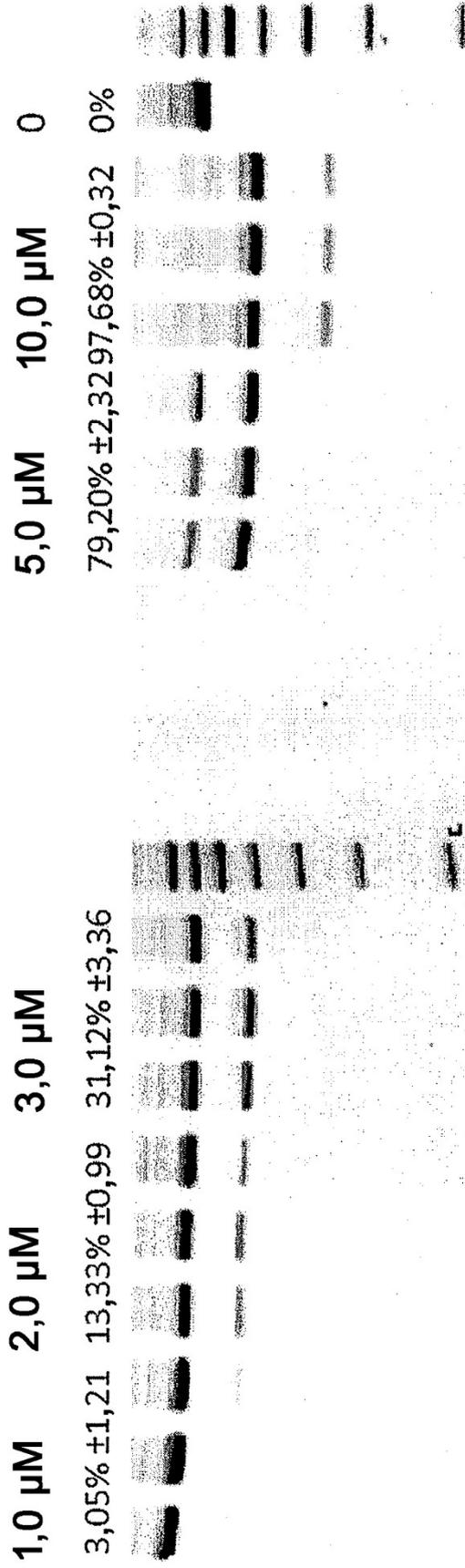


FIG. 6E

# Exón 45 DR.2

Síntesis de alta pureza (1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0 µM) Células RD

NG-0777 09AU11-J(C4) (SEC ID nº 39)

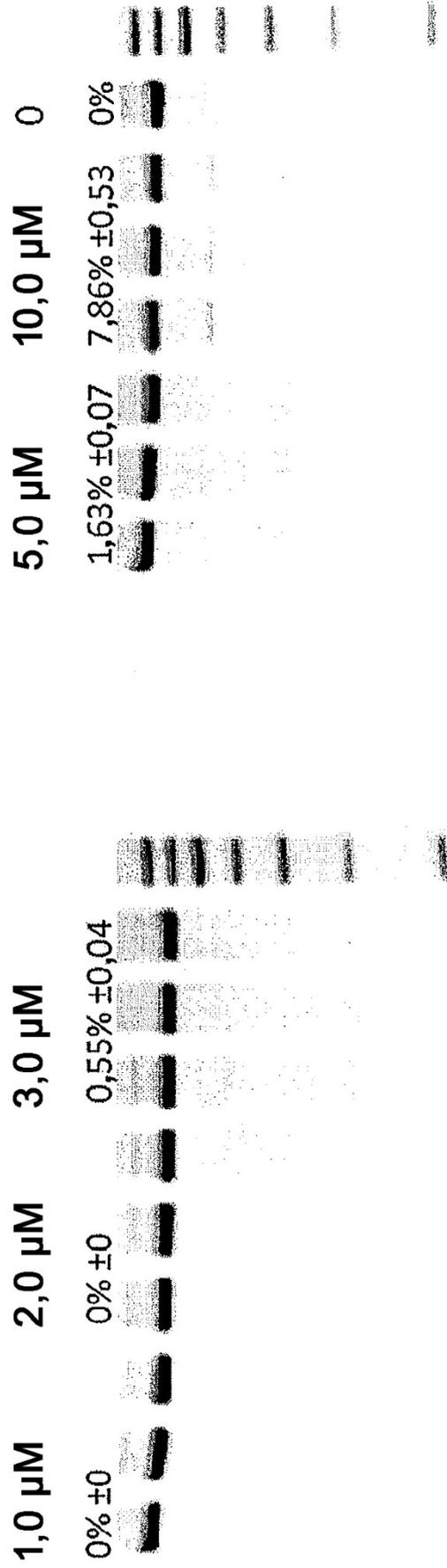


FIG. 6F

# Exón 45 DR.2

Síntesis de alta pureza (1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0 µM) Células RD

(Control negativo)

NG-0782 09AU11-J(D4) (SEC ID nº 49)

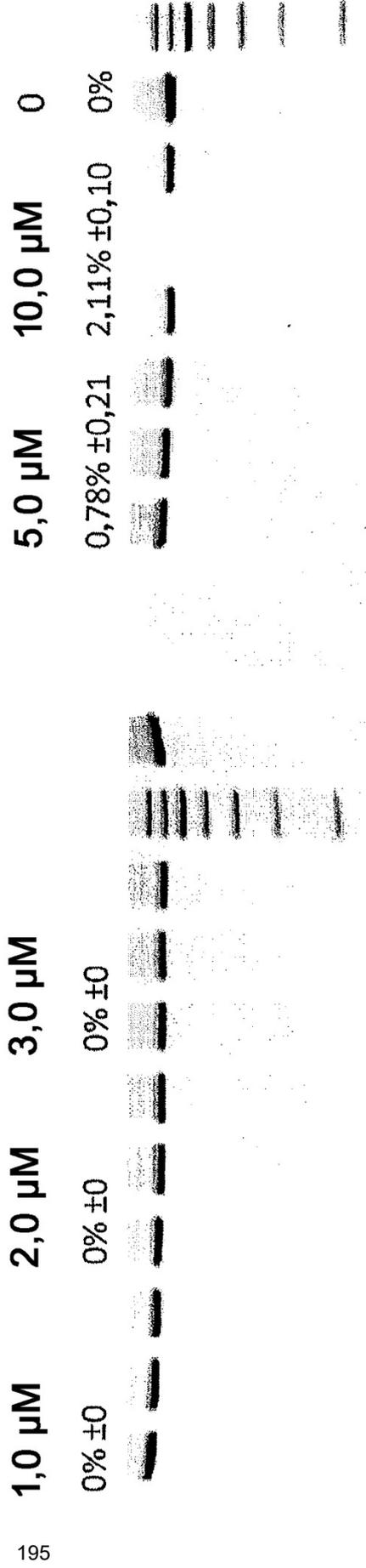


FIG. 6G

# Resumen de rangos de dosis de exón 45 en células RD

## Porcentaje con omisión exónica

Tratamiento ( $\mu\text{M}$ )	770 (SEC ID n° 27)	771 (SEC ID n° 29)	774 (SEC ID n° 34)	777 (SEC ID n° 39)	782 (SEC ID n° 49)
1,0	0,00	0,53	3,05	0,00	0,00
2,0	0,43	1,99	13,33	0,00	0,00
3,0	0,60	4,91	31,12	0,55	0,00
5,0	1,15	14,25	79,20	1,63	0,78
10	4,17	84,37	97,68	7,86	2,11
EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	54,37	7,25	3,69	NA	NA

*FIG. 6H*

# Exón 45 CS (Cribado de competidores)

Síntesis de alta pureza, 3,0 µM, Células RD

<u>Oligo</u>	<u>Nombre. ID de sec.</u>	<u>Lote</u>
NG-09-0565	H45A(+71+90); 604	09AU18-J(C2)
NG-09-0566	h45AON1; 605	09AU18-J(D2)
NG-09-0567	h45AON5; 606	09AU18-J(E2)
NG-09-0568	H45A(-06+20); 607	09AU18-J(F2)
NG-08-0774	008; 34	09AU11-J(B4)

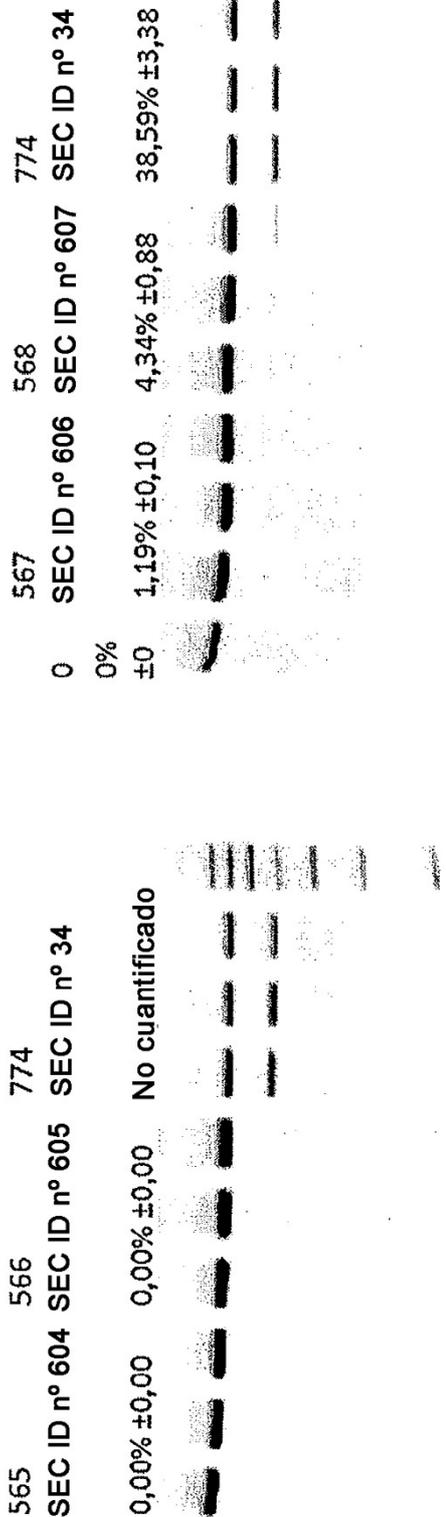


FIG. 6I

