

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 745 825**

51 Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.05.2015 PCT/US2015/028916**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.11.2015 WO15168635**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.05.2015 E 15786214 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.07.2019 EP 3137596**

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

30 Prioridad:

01.05.2014 US 201461987471 P
06.11.2014 US 201462076273 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.03.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 745 825 T3

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

DESCRIPCIÓN

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

5 **Campo**

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

10

Antecedentes

El sistema del complemento es parte del sistema inmune innato del huésped implicado en la lisis de células extrañas, mejorar la fagocitosis de antígenos, aglutinar agentes portadores de antígenos, y atraer macrófagos y neutrófilos. El sistema del complemento se divide en tres vías de iniciación, las vías clásica, lectina y alternativa, que convergen en el componente C3 para generar un complejo enzimático conocido como C3 convertasa, que escinde C3 en C3a y C3b. La C3b se asocia con la C3 convertasa mediada por CFB y da como resultado la generación de la C5 convertasa, que escinde C5 en C5a y C5b, lo que inicia la vía de ataque a membrana que resulta en la formación del complejo de ataque a la membrana (MAC) que comprende los componentes C5b, C6, C7, C8, y C9. El complejo de ataque a la membrana (MAC) forma canales transmembrana e interrumpe la bicapa fosfolipídica de las células objetivo, lo que lleva a la lisis celular.

15

20

25

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

La US7696344 B2 se refiere a maximizar la generación de un reactivo de silenciamiento de genes eficaz seleccionado ARNip particulares por diseño racional, así como métodos para silenciar genes.

30

La US2004/249178 A1 se refiere a conjugados, conectores degradables, composiciones, métodos de síntesis, y aplicaciones de los mismos, incluyendo conjugados derivados de colesterol, folato, galactosa, galactosamina, N-acetil galactosamina, PEG, fosfolípido, péptido y albúmina de suero humana (HSA) de compuestos biológicamente activos.

35

La WO2012/177947 A2 se refiere a ácido ribonucleico de cadena doble (ARNbc) dirigido a un gen de APOC3, y métodos de uso del ARNbc para inhibir la expresión de APOC3.

40

La WO2013/166121 A1 se refiere a conjugados que contienen tetraGalNAc y métodos de administración de oligonucleótidos.

M. Maier et al. (2203) se refiere a un motivo de reconocimiento de carbohidratos multivalente para el receptor de asialoglicoproteína, diseñado para la administración específica a tejidos y células de fármacos antisentido para células hepáticas de la parénquima.

45 **Sumario de la invención**

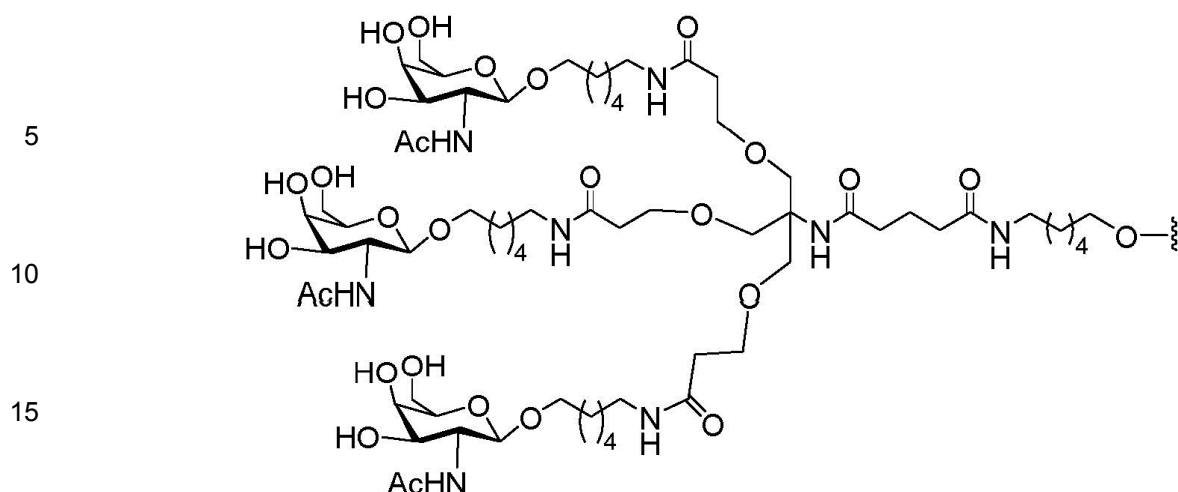
La presente invención proporciona un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 20 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de la SEQ ID NO: 440 y en donde el grupo conjugado comprende:

50

55

60

65



20 La presente invención también proporciona una composición que comprende el compuesto de la invención o sal del mismo y por lo menos uno de un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

25 La presente invención también proporciona el compuesto o la composición de la invención para su uso en el tratamiento, prevención, o mejora de una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento en un sujeto.

Sumario de la Divulgación

30 El sistema del complemento media la inmunidad innata y desempeña un papel importante en la respuesta inflamatoria normal a la lesión, pero su desregulación puede provocar lesiones graves. La activación de la vía del complemento alternativa más allá de su nivel constitutivo de "ralentí" puede llevar a una hiperactividad sin restricciones y se manifiesta como enfermedades de desregulación del complemento.

35 Ciertas realizaciones de la divulgación se refieren a métodos para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento en un sujeto mediante la administración de un inhibidor específico del Factor B del Complemento (CFB). Varias realizaciones de la divulgación están dirigidas a un método para inhibir la expresión de CFB en un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento mediante la administración de un inhibidor específico de CFB al sujeto. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar un inhibidor específico de CFB al sujeto. En varias realizaciones de la divulgación, un método para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el riñón de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar un inhibidor específico de CFB al sujeto.

Descripción detallada

50 Debe entenderse que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son solo ejemplares y explicativas y no son restrictivas de la invención, como se reivindica. En la presente, el uso del singular incluye el plural a menos que se indique específicamente lo contrario. Como se usa en la presente, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. Además, el uso del término "incluyendo" así como otras formas, como "incluye" e "incluido", no es limitativa. Además, términos como "elemento" o "componente" abarcan tanto elementos como componentes que comprenden una unidad como elementos y componentes que comprenden más de una subunidad, a menos que se indique específicamente lo contrario.

60 Los encabezados de sección usados en la presente son solo con propósitos organizativos y no deben interpretarse como limitativos de la materia descrita.

A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura usada en relación con, y los procedimientos y técnicas de química analítica, química orgánica sintética y química medicinal y farmacéutica descritas en la presente son los bien conocidos y comúnmente usados en la técnica. Pueden usar técnicas estándar para la síntesis química y el análisis químico. Ciertas de tales técnicas y procedimientos pueden encontrarse, por ejemplo, en "Carbohydrate Modifications in Antisense Research" editado por Sangvi and Cook, American Chemical

Society, Washington D.C., 1994; "Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Publishing Co., Easton, Pa., 21ª edición, 2005; y "Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications" editado por Stanley T. Crooke, CRC Press, Boca Raton, Florida; y Sambrook et al., "Molecular Cloning, A laboratory Manual," 2ª Edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

5 A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos tienen los siguientes significados:
 "Nucleósido 2'-F" se refiere a un nucleósido que comprende un azúcar que comprende flúor en la posición 2'. A menos que se indique lo contrario, el flúor en un nucleósido 2'-F está en la posición ribo (reemplazando el OH de una ribosa natural).

10 "2'-O-metoxietilo" (también 2'-MOE y 2'-O (CH₂)₂-OCH₃) se refiere a una modificación de O-metoxi-etilo en la posición 2' de un anillo de furanosa. Un azúcar modificado con 2'-O-metoxietilo es un azúcar modificado.

15 "Nucleósido 2'-MOE" (también nucleósido 2'-O-metoxietilo) significa un nucleósido que comprende una fracción de azúcar modificada en 2'-MOE.

20 "Nucleósido 2'-sustituido" significa un nucleósido que comprende un sustituyente en la posición 2' del anillo de furanosilo distinto de H u OH. En ciertas realizaciones, los nucleósidos 2' sustituidos incluyen nucleósidos con modificaciones de azúcares bicíclicos.

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

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

"5-metilcitosina" significa una citosina modificada con un grupo metilo unido a la posición 5. Una 5-metilcitosina es una nucleobase modificada.

30 "Aproximadamente" significa dentro del ±10% de un valor. Por ejemplo, si se indica, "los compuestos afectaron por lo menos aproximadamente al 70% de inhibición de CFB", está implicado que los niveles de CFB se inhiben dentro de un intervalo del 60% y el 80%.

35 "Administración" o "administrar" se refiere a las vías de introducción de un compuesto antisentido proporcionado en la presente a un sujeto para realizar su función pretendida. Un ejemplo de una vía de administración que puede usarse incluye, pero no está limitado a, la administración parenteral como inyección o infusión subcutánea, intravenosa o intramuscular.

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

45 Como se usa en la presente, "alquenilo" significa un radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificado que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono y que tiene al menos un enlace doble de carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen, sin limitación, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metil-2-buten-1-ilo, dienos como 1,3-butadieno y similares. Los grupos alquenilo incluyen típicamente de 2 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más típicamente de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, prefiriéndose más de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Los grupos alquenilo como se usan en la presente pueden incluir opcionalmente uno o más grupos sustituyentes adicionales.

50 Como se usa en la presente, "alquinilo" significa un radical de hidrocarburo lineal o ramificado que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono y que tiene al menos un enlace triple carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alquinilo incluyen, sin limitación, etinilo, 1-propinilo, 1-butinilo y similares. Los grupos alquinilo incluyen típicamente de 2 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más típicamente de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, prefiriéndose más de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Los grupos alquinilo como se usan en la presente pueden incluir opcionalmente uno o más grupos sustituyentes adicionales.

60 Como se usa en la presente, "acilo" significa un radical formado por la eliminación de un grupo hidroxilo de un ácido orgánico y tiene la fórmula general -C(O)-X donde X es típicamente alifático, alicíclico o aromático. Los ejemplos incluyen carbonilos alifáticos, carbonilos aromáticos, sulfonilos alifáticos, sulfilos aromáticos, sulfínulos alifáticos, fosfatos aromáticos, fosfatos alifáticos y similares. Los grupos acilo como se usan en la presente pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

65

Como se usa en la presente, "alicíclico" significa un sistema de anillos cíclico en el que el anillo es alifático. El sistema de anillos puede comprender uno o más anillos en los que por lo menos un anillo es alifático. Los alicíclicos preferidos incluyen anillos que tienen de aproximadamente 5 a aproximadamente 9 átomos de carbono en el anillo. Alicíclico, como se usa en la presente, puede incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

Como se usa en la presente, "alifático" significa un radical de hidrocarburos lineal o ramificado que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono en el que la saturación entre dos átomos de carbono cualquiera es un enlace simple, doble o triple. Un grupo alifático contiene preferiblemente de 1 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, prefiriéndose más de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono. La cadena lineal o ramificada de un grupo alifático puede interrumpirse con uno o más heteroátomos que incluyen nitrógeno, oxígeno, azufre y fósforo. Tales grupos alifáticos interrumpidos por heteroátomos incluyen, sin limitación, polialcoxis como polialquilenglicoles, poliaminas y poliiminas. Los grupos alifáticos como se usan en la presente pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

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

Como se usa en la presente, "aminoalquilo" significa un radical alquilo C1-C12 sustituido con amino. La parte alquilo del radical forma un enlace covalente con una molécula original. El grupo amino puede estar localizado en cualquier posición y el grupo aminoalquilo puede sustituirse con un grupo sustituyente adicional en las partes alquilo y/o amino.

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

Como se usa en la presente, "arilo" y "aromático" significan radicales del sistema de anillo carbocíclicos mono- o policíclicos que tienen uno o más anillos aromáticos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, sin limitación, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, idenilo y similares. Los sistemas de anillo de arilo preferidos tienen de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 átomos de carbono en uno o más anillos. Los grupos arilo como se usan en la presente pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

"Mejora" se refiere a disminuir por lo menos un indicador, signo o síntoma de una enfermedad, trastorno o afección asociada. En ciertas realizaciones, la mejora incluye un retraso o una desaceleración en la progresión de uno o más indicadores de una afección o enfermedad. La gravedad de los indicadores puede determinarse mediante medidas subjetivas u objetivas, que son conocidas por los expertos en la técnica.

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

"Actividad antisentido" significa cualquier actividad detectable o medible atribuible a la hibridación de un compuesto antisentido con su ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, la actividad antisentido es una disminución en la cantidad o expresión de un ácido nucleico o proteína objetivo codificado por dicho ácido nucleico objetivo.

"Compuesto antisentido" significa un compuesto oligomérico que es capaz de experimentar hibridación con un ácido nucleico objetivo a través de enlaces de hidrógeno. Los ejemplos de compuestos antisentido incluyen compuestos de cadena sencilla y cadena doble como oligonucleótidos antisentido, ARNip, ARNhc, ARNmc y compuestos basados en la ocupación.

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

Los "mecanismos antisentido" son todos aquellos mecanismos que implican la hibridación de un compuesto con el ácido nucleico objetivo, en donde el resultado o el efecto de la hibridación es o la degradación del objetivo o la ocupación del objetivo con el estancamiento concomitante de la maquinaria celular que implica, por ejemplo, transcripción o el corte y empalme.

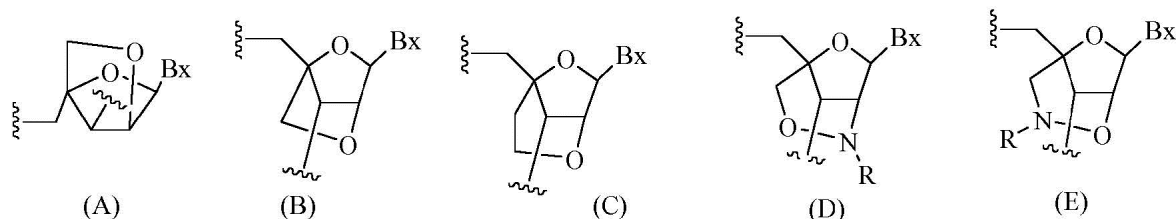
"Oligonucleótido antisentido" significa un oligonucleótido de cadena sencilla que tiene una secuencia de

nucleobases que permite la hibridación con una región o segmento correspondiente de un ácido nucleico objetivo.

"Complementariedad de base" se refiere a la capacidad para el apareamiento de bases preciso de nucleobases de un oligonucleótido antisentido con nucleobases correspondientes en un ácido nucleico objetivo (es decir, hibridación), y está mediada por unión de hidrógeno de Watson-Crick, Hoogsteen o Hoogsteen invertida entre nucleobases correspondientes.

"Fracción de azúcar bicíclico" significa una fracción de azúcar modificado que comprende un anillo de 4 a 7 miembros (incluyendo pero no limitado a un furanosilo) que comprende un puente que conecta dos átomos del anillo de 4 a 7 miembros para formar un segundo anillo, lo que da como resultado una estructura bicíclica. En ciertas realizaciones, el anillo de 4 a 7 miembros es un anillo de azúcar. En ciertas realizaciones, el anillo de 4 a 7 miembros es un furanosilo. En ciertas de tales realizaciones, el puente conecta el carbono 2' y el carbono 4' del furanosilo.

"Ácido nucleico bicíclico" o "BNA" o "nucleósidos BNA" significa monómeros de ácido nucleico que tienen un puente que conecta dos átomos de carbono entre la posición 4' y la 2' de la unidad de azúcar del nucleósido, formando de este modo un azúcar bicíclico. Ejemplos de tales azúcar bicíclico incluyen, pero no están limitados a A) α -L-metilenoxi (4'-CH₂-O-2') LNA, (B) β -D-Metilenoxi (4'-CH₂-O-2') LNA, (C) Etilenoxi (4'-(CH₂)₂-O-2') LNA, (D) Aminooxi (4'-CH₂-ON(R)-2') LNA y (E) Oxiamino (4'-CH₂-N(R)-O-2') LNA, tal como se representa a continuación.



Como se usa en la presente, los compuestos de LNA incluyen, pero no están limitados a, compuestos que tienen por lo menos un puente entre las posiciones 4' y 2' del azúcar, en donde cada uno de los puentes comprende independientemente 1 o de 2 a 4 grupos enlazados seleccionados independientemente de $-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)_n-$, $-\text{C}(\text{R}_1)=\text{C}(\text{R}_2)-$, $-\text{C}(\text{R}_1)=\text{N}-$, $-\text{C}(=\text{NR}_1)-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{S})-$, $-\text{O}-$, $-\text{Si}(\text{R}_1)_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_x-$ y $-\text{N}(\text{R}_1)-$; en donde: x es 0, 1 o 2; n es 1, 2, 3 o 4; cada R₁ y R₂ es, independientemente, H, un grupo protector, hidroxilo, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alqueno C₂-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂ sustituido, alquino C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂ sustituido, arilo C₅-C₂₀, arilo C₅-C₂₀ sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical alicíclico C₅-C₇, radical alicíclico C₅-C₇ sustituido, halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, COOJ₁, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, CN, sulfonilo (S(=O)₂-J₁) o sulfoxilo (S(=O)-J₁); y cada J₁ y J₂ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alqueno C₂-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂ sustituido, alquino C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂ sustituido, arilo C₅-C₂₀, arilo C₅-C₂₀ sustituido, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, aminoalquilo C₁-C₁₂, aminoalquilo C₁-C₁₂ sustituido, o un grupo protector.

Los ejemplos de grupos puente 4'-2' abarcados dentro de la definición de LNA incluyen, pero no están limitados a, uno de los fórmulas: $-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)_n-$, $-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)_n\text{O}-$, $-\text{C}(\text{R}_1\text{R}_2)-\text{N}(\text{R}_1)-\text{O}-$ o $-\text{C}(\text{R}_1\text{R}_2)-\text{O}-\text{N}(\text{R}_1)-$. Además, otros grupos puente incluidos en la definición de LNA son puentes $-\text{CH}_2-2'$, $4'-(\text{CH}_2)_2-2'$, $4'-(\text{CH}_2)_3-2'$, $4'-\text{CH}_2-\text{O}-2'$, $4'-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-2'$, $4'-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{R}_1)-2'$ y $4'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}_1)-\text{O}-2'$, en donde cada R₁ y R₂ es, independientemente, H, un grupo protector o alquilo C₁-C₁₂.

También se incluyen dentro de la definición de LNA de acuerdo con la invención los LNA en los que el grupo 2'-hidroxilo del anillo de azúcar ribosilo está conectado al átomo de carbono 4' del anillo de azúcar, formando de este modo un puente metileno (4'-CH₂-O-2') para formar la fracción de azúcar bicíclico. El puente también puede ser un grupo metileno (-CH₂-) que conecta el átomo de oxígeno 2' y el átomo de carbono 4', para el cual se usa el término metilenoxi (4'-CH₂-O-2') LNA. Además; en el caso de la fracción de azúcar bicíclica que tiene un grupo puente etileno en esta posición, se usa el término etilenoxi (4'-CH₂CH₂-O-2') LNA. También se incluye en la definición de LNA α -L-metilenoxi (4'-CH₂-O-2'), un isómero de metilenoxi (4'-CH₂-O-2') LNA, como se usa en la presente.

"Estructura de tapa" o "fracción de tapa terminal" significa modificaciones químicas, que se han incorporado en cualquiera de los extremos de un compuesto antisentido.

"Carbohidrato" significa un carbohidrato de origen natural, un carbohidrato modificado, o un derivado de carbohidrato.

"Grupo de carbohidratos" significa un compuesto que tiene uno o más residuos de carbohidratos unidos a un andamiaje o grupo conector (ver, por ejemplo, Maier et al., "Synthesis of Antisense Oligonucleotides Conjugated to a Multivalent Carbohydrate Cluster for Cellular Targeting," Bioconjugate Chemistry, 2003, (14): 18-29, o Rensen et

al., "Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor," J. Med. Chem. 2004, (47): 5798-5808, para ejemplos de grupos conjugados de carbohidratos).

5 "Derivado de carbohidratos" significa cualquier compuesto que puede sintetizarse usando un carbohidrato como material de partida o producto intermedio.

10 "cEt" o "acetato restringido" significa una fracción de azúcar bicíclico que comprende un puente que conecta el carbono 4' y el carbono 2', en donde el puente tiene la fórmula: 4'-CH(CH₃)-O-2'.

15 "Modificación química" significa una diferencia química en un compuesto en comparación con una contrapartida de origen natural. Las modificaciones químicas de los oligonucleótidos incluyen modificaciones de nucleósidos (incluidas modificaciones de fracciones de azúcar y modificaciones de nucleobases) y modificaciones de enlaces internucleosídicos. En referencia a un oligonucleótido, la modificación química no incluye diferencias solo en la secuencia de nucleobases.

20 "Enlace escindible" significa cualquier enlace químico capaz de ser separado. En ciertas realizaciones, un enlace escindible se selecciona de entre: una amida, una poliamida, un éster, un éter, uno o ambos ésteres de un fosfodiéster, un éster de fosfato, un carbamato, un disulfuro o un péptido.

25 "Fracción escindible" significa un enlace o grupo que es capaz de ser separado bajo condiciones fisiológicas. En ciertas realizaciones, una fracción escindible se escinde dentro de una células o compartimentos subcelulares, como un lisosoma. En ciertas realizaciones, una fracción escindible se escinde por enzimas endógenas, como nucleasas. En ciertas realizaciones, una fracción escindible comprende un grupo de átomos que tienen uno, dos, tres, cuatro o más de cuatro enlaces escindibles.

30 "Conjugado" o "grupo conjugado" significa un átomo o grupo de átomos unidos a un oligonucleótido o compuesto oligomérico. En general, los grupos conjugados modifican una o más propiedades del compuesto al que se unen incluyendo, pero no limitado a, propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas, de unión, absorción, distribución celular, captación celular, carga y/o depuración.

35 "Conector conjugado" o "conector" en el contexto de un grupo conjugado significa una parte de un grupo conjugado que comprende cualquier átomo o grupo de átomos y que enlaza covalentemente (1) un oligonucleótido con otra parte del grupo conjugado o (2) dos o más partes del grupo conjugado.

40 Los grupos conjugados se muestran en la presente como radicales, proporcionando un enlace para formar una unión covalente con un compuesto oligomérico como un oligonucleótido antisentido. En ciertas realizaciones, el punto de unión en el compuesto oligomérico es el átomo de oxígeno 3' del grupo hidroxilo 3' del nucleósido terminal 3' del compuesto oligomérico. En ciertas realizaciones, el punto de unión en el compuesto oligomérico es el átomo de oxígeno 5' del grupo hidroxilo 5' del nucleósido terminal 5' del compuesto oligomérico. En ciertas realizaciones, el enlace para formar la unión con el compuesto oligomérico es un enlace escindible. En ciertas de tales realizaciones dicho enlace escindible constituye todo o parte de una fracción escindible.

45 En ciertas realizaciones, los grupos conjugados comprenden una fracción escindible (por ejemplo, un enlace escindible o nucleósido escindible) y una parte de grupo de carbohidratos, como una parte de grupo GalNAc. Dicha parte de grupo de carbohidratos comprende: una fracción de objetivo y, opcionalmente, un conector conjugado. En ciertas realizaciones, la parte del grupo de carbohidratos se identifica por el número y la identidad del ligando. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la parte del grupo de carbohidratos comprende 3 grupos GalNAc y se designa "GalNAc3". En ciertas realizaciones, la parte del grupo de carbohidratos comprende 4 grupos GalNAc y se designa "GalNAc4". En la presente se describen partes de grupos de carbohidratos específicas (que tienen grupos conectores de unión, ramificación y conjugado específicos) y se designan con la numeración romana seguida del subíndice "a". Por consiguiente, "GalNac3-la" se refiere a una parte de grupo de carbohidratos específicos de un grupo conjugado que tiene 3 grupos GalNac y grupos de unión, ramificación y enlace específicamente identificados. Dicho fragmento de grupo de carbohidratos se une a un compuesto oligomérico a través de una fracción escindible, como un enlace escindible o un nucleósido escindible.

60 "Compuesto conjugado" significa cualquier átomo, grupo de átomos o grupo de átomos enlazados adecuado para su uso como grupo conjugado. En ciertas realizaciones, los compuestos conjugados pueden poseer o impartir una o más propiedades, que incluyen, pero no están limitadas a, propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas, de unión, absorción, distribución celular, captación celular, carga y/o depuración.

"Nucleósido de etilo restringido" (también nucleósido cEt) significa un nucleósido que comprende una fracción de azúcar bicíclico que comprende un puente 4'-CH(CH₃)-O-2'.

65 "Factor B del complemento (CFB)" significa cualquier ácido nucleico o proteína de CFB. "Ácido nucleico de

CFB" significa cualquier ácido nucleico que codifique CFB. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, un ácido nucleico de CFB incluye una secuencia de ADN que codifica CFB, una secuencia de ARN transcrita a partir de ADN que codifica CFB (incluyendo ADN genómico que comprende intrones y exones), incluyendo una secuencia de ARN que no codifica proteínas (es decir, no codificante), y una secuencia de ARNm que codifica CFB. "ARNm de CFB" significa un ARNm que codifica una proteína de CFB.

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

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

"Compuestos antisentido quiméricos" significa compuestos antisentido que tienen por lo menos 2 regiones químicamente distintas, y cada posición tiene una pluralidad de subunidades.

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

"Comprender", "comprende" y "que comprende" se entenderá que implica la inclusión de un paso o elemento o grupo de pasos o elementos establecidos, pero no la exclusión de cualquier otro paso o elemento o grupo de pasos o elementos.

"Nucleobases contiguas" significa nucleobases inmediatamente adyacentes entre sí.

"Desoxinucleósido" significa un nucleósido que comprende una fracción de azúcar de 2'-H furanosilo, como se encuentra en los desoxirribonucleótidos (ADN) de origen natural. En ciertas realizaciones, un 2'-desoxinucleósido puede comprender una nucleobase modificada o puede comprender una nucleobase de ARN (por ejemplo, uracilo).

"Desoxirribonucleótido" significa un nucleótido que tiene un hidrógeno en la posición 2' de la porción de azúcar del nucleótido. Los desoxirribonucleótidos pueden modificarse con cualquiera de una variedad de sustituyentes.

"Diseñar" o "Diseñado para" se refiere al proceso de diseñar un compuesto oligomérico que hibrida específicamente con una molécula de ácido nucleico seleccionada.

"Modificado de manera diferente" significa modificaciones químicas o sustituyentes químicos que son diferentes entre sí, incluyendo la ausencia de modificaciones. Así, por ejemplo, un nucleósido MOE y un nucleósido de ADN no modificado están "modificados de manera diferente", aunque el nucleósido de ADN no esté modificado. De igual manera, el ADN y el ARN están "modificados de manera diferente", aunque ambos son nucleósidos no modificados de origen natural. Los nucleósidos que son iguales pero que comprenden nucleobases diferentes no están modificados de manera diferente. Por ejemplo, un nucleósido que comprende un azúcar modificado 2'-OMe y una nucleobase de adenina no modificada y un nucleósido que comprende un azúcar modificado 2'-OMe y una nucleobase de timina no modificada no están modificados de manera diferente.

"Cadena doble" se refiere a dos compuestos oligoméricos separados que se hibridan entre sí. Tales compuestos de cadena doble pueden tener uno o más nucleósidos no hibridantes en uno o ambos extremos de una o ambas cadenas (voladizos) y/o uno o más nucleósidos no hibridantes internos (malapareamientos) siempre que haya complementariedad suficiente para mantener la hibridación bajo condiciones fisiológicamente relevantes.

"Cantidad eficaz" significa la cantidad de agente farmacéutico activo suficiente para efectuar un resultado fisiológico deseado en un individuo que necesita el agente. La cantidad eficaz puede variar entre individuos dependiendo de la salud y la condición física del individuo a tratar, el grupo taxonómico de los individuos a tratar, la formulación de la composición, la evaluación de la condición médica del individuo, y otros factores relevantes.

"Eficacia" significa la capacidad de producir un efecto deseado.

"Expresión" incluye todas las funciones mediante las cuales la información codificada de un gen se convierte en estructuras presentes y operativas en una célula. Tales estructuras incluyen, pero no están limitadas a los productos de transcripción y traducción.

"Completamente complementario" o "100% complementario" significa que cada nucleobase de un primer

ácido nucleico tiene una nucleobase complementaria en un segundo ácido nucleico. En ciertas realizaciones, un primer ácido nucleico es un compuesto antisentido y un ácido nucleico objetivo es un segundo ácido nucleico.

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

"Gapmer" significa un compuesto antisentido quimérico en el que una región interna que tiene una pluralidad de nucleósidos que soportan la escisión de la RNasa H está posicionado entre regiones externas que tienen uno o más nucleósidos, en donde los nucleósidos que comprenden la región interna son químicamente distintos del nucleósido o nucleósidos que comprenden las regiones externas. La región interna puede denominarse "hueco" y las regiones externas pueden denominarse "alas".

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

15 "Heteroarilo" y "heteroaromático" significan un radical que comprende un anillo aromático mono- o policíclico, un sistema de anillo o un sistema de anillo fusionado en el que por lo menos uno de los anillos es aromático e incluye uno o más heteroátomos. También se entiende que el heteroarilo incluye sistemas de anillos fusionados que incluyen sistemas en los que uno o más de los anillos fusionados no contiene heteroátomos. Los grupos heteroarilo incluyen típicamente un átomo de anillo seleccionado de azufre, nitrógeno u oxígeno. Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, sin limitación, piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, quinoxalinilo y similares. Los radicales heteroarilo pueden unirse a una molécula original directamente o a través de una fracción de enlace como un grupo alifático o heteroátomo. Los grupos heteroarilo como se usan en la presente pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

25 "Hibridación" significa el apareamiento de moléculas de ácido nucleico complementarias. En ciertas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico complementarias incluyen, pero no están limitadas a, un compuesto antisentido y un objetivo de ácido nucleico. En ciertas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico complementarias incluyen, pero no están limitadas a, un oligonucleótido antisentido y un objetivo de ácido nucleico.

30 "Identificar un animal que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad, trastorno o afección" significa identificar a un animal al que se le ha diagnosticado la enfermedad, trastorno y/o afección o identificar un animal predispuesto a desarrollar la enfermedad, el trastorno y/o la afección. Tal identificación puede lograrse mediante cualquier método, incluyendo la evaluación del historial médico de un individuo y pruebas o evaluaciones clínicas estándar.

35 "Inmediatamente adyacente" significa que no hay elementos intermedios entre los elementos inmediatamente adyacentes.

40 "Individuo" significa un animal humano o no humano seleccionado para tratamiento o terapia.

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

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

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

50 "Grupo de enlace de fósforo internucleosídico" significa un grupo de enlace de fósforo que enlaza directamente dos nucleósidos.

Los oligonucleótidos antisentido "alargados" son aquellos que tienen uno o más nucleósidos adicionales con respecto a un oligonucleótido antisentido divulgado en la presente.

55 "Motivo de enlace significa un patrón de modificaciones de enlace en un oligonucleótido o región del mismo. Los nucleósidos de dicho oligonucleótido pueden estar modificados o no modificados. A menos que se indique lo contrario, los motivos de la presente que describen solamente enlaces se entiende que son motivos de enlace. Por tanto, en tales casos, los nucleósidos no están limitados.

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

65 "Nucleósidos enlazados" significa nucleósidos adyacentes enlazados entre sí por un enlace internucleosídico.

"Nucleósido de ácido nucleico bloqueado" o "LNA" significa un nucleósido que comprende una fracción de azúcar bicíclico que comprende un puente 4'-CH₂-O-2'.

5 "Malapareamiento" o "nucleobase no complementaria" se refiere al caso en el que una nucleobase de un primer ácido nucleico no es capaz de emparejarse con la nucleobase correspondiente de un segundo ácido nucleico u objetivo.

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

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

"Nucleósido modificado" significa un nucleósido que tiene, independientemente, una fracción de azúcar modificada y/o una nucleobase modificada.

20 "Nucleótido modificado" significa un nucleótido que tiene, independientemente, un fracción de azúcar modificado, un enlace internucleosídico modificado, o una nucleobase modificada.

"Oligonucleótido modificado" significa un oligonucleótido que comprende por lo menos un enlace internucleosídico modificado, un azúcar modificado y/o una nucleobase modificada.

25 "Azúcar modificado" significa la sustitución y/o cualquier cambio de un fracción de azúcar natural.

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

35 "Monómero" se refiere a una unidad individual de un oligómero. Los monómeros incluyen, pero no están limitados a, nucleósidos y nucleótidos, ya sean de origen natural o modificados.

40 Se entiende que "sistema de anillo mono o policíclico" incluye todos los sistemas de anillo seleccionados de sistemas de anillo radicales individuales o policíclicos en donde los anillos están fusionados o enlazados y se entiende que incluye sistemas de anillo individuales y mixtos seleccionados individualmente de alifático, alicíclico, arilo, heteroarilo, aralquilo, arilalquilo, heterocíclico, heteroarilo, heteroaromático y heteroarilalquilo. Tales estructuras mono y policíclicas pueden contener anillos que tienen cada uno el mismo nivel de saturación o cada uno, independientemente, tienen varios grados de saturación, incluyendo completamente saturado, parcialmente saturado o completamente insaturado. Cada anillo puede comprender átomos del anillo seleccionados de C, N, O y S para dar lugar a anillos heterocíclicos, así como anillos que comprenden solo átomos en el anillo C que pueden estar presentes en un motivo mixto, como por ejemplo bencimidazol en el que un anillo tiene solo un anillo de átomos de carbono y el anillo fusionado tiene dos átomos de nitrógeno. El sistema de anillo mono o policíclico puede sustituirse adicionalmente con grupos sustituyentes como, por ejemplo, ftalimida que tiene dos grupos =O unidos a uno de los anillos. Los sistemas de anillos mono o policíclicos pueden unirse a las moléculas originales usando varias estrategias, como directamente a través de un átomo del anillo, fusionarse a través de múltiples átomos del anillo, a través de un grupo sustituyente o mediante una fracción de enlace bifuncional.

50 "Motivo" significa el patrón de nucleósidos no modificados y modificados en un compuesto antisentido.

55 "Fracción de azúcar natural" significa un fracción de azúcar que se encuentra en el ADN (2'-H) o ARN (2'-OH).

"Enlace internucleosídico de origen natural" significa un enlace fosfodiéster de 3' a 5'.

60 "Grupo de enlace neutro" significa un grupo de enlace que no está cargado. Los grupos de enlace neutro incluyen, sin limitación, fosfo-triésteres, metilfosfonatos, MMI (-CH₂-N(CH₃)-O-), amida-3 (-CH₂-C(=O)-N(H)-), amida-4 (-CH₂-N(H)-C(=O)-), formacetal (-O-CH₂-O-) y tioformacetal (-S-CH₂-O-). Grupos de enlace neutros adicionales incluyen enlaces no iónicos que comprenden siloxano (dialquilsiloxano), éster de carboxilato, carboxamida, sulfuro, éster de sulfonato y amidas (ver, por ejemplo: Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y.S. Sanghvi and P.D. Cook Eds. ACS Symposium Series 580; Capítulos 3 y 4, (págs. 40-65)). Grupos de enlace neutro adicionales incluyen enlaces no iónicos que comprenden partes componentes de N, O, S y CH₂ mixtas.

65

"Nucleobase no complementaria" se refiere a una pareja de nucleobases que no forman enlaces de hidrógeno entre sí o soportan de otra manera la hibridación.

5 "Grupo de enlace neutro no internucleosídico" significa un grupo de enlace neutro que no enlaza directamente dos nucleósidos. En ciertas realizaciones, un grupo de enlace neutro no internucleosídico enlaza un nucleósido con un grupo distinto de un nucleósido. En ciertas realizaciones, un grupo de enlace neutro no internucleosídico enlaza dos grupos, ninguno de los cuales es un nucleósido.

10 "Grupo de enlace de fósforo no internucleosídico" significa un grupo de enlace de fósforo que no enlaza directamente dos nucleósidos. En ciertas realizaciones, un grupo de enlace de fósforo no internucleosídico enlaza un nucleósido con un grupo distinto de un nucleósido. En ciertas realizaciones, un grupo de enlace de fósforo no internucleosídico enlaza dos grupos, ninguno de los cuales es un nucleósido.

15 "Ácido nucleico" se refiere a moléculas compuestas de nucleótidos monoméricos. Un ácido nucleico incluye, pero no está limitado a, ácidos ribonucleicos (ARN), ácidos desoxirribonucleicos (ADN), ácidos nucleicos de cadena sencilla y ácidos nucleicos de cadena doble.

20 "Nucleobase" significa un fracción de heterocíclico capaz de emparejarse con una base de otro ácido nucleico.

"Complementariedad de nucleobase" se refiere a una nucleobase que es capaz de emparejar bases con otra nucleobase. Por ejemplo, en el ADN, la adenina (A) es complementaria de la timina (T). Por ejemplo, en el ARN, la adenina (A) es complementaria al uracilo (U). En ciertas realizaciones, nucleobase complementaria se refiere a una nucleobase de un compuesto antisentido que es capaz de emparejar bases con una nucleobase de su ácido nucleico objetivo. Por ejemplo, si una nucleobase en una cierta posición de un compuesto antisentido es capaz de formar enlaces de hidrógeno con una nucleobase en una cierta posición de un ácido nucleico objetivo, entonces se considera que la posición de los enlaces de hidrógeno entre el oligonucleótido y el ácido nucleico objetivo es complementaria en esa pareja de nucleobases.

30 "motivo de modificación de nucleobases" significa un patrón de modificaciones a nucleobases a lo largo de un oligonucleótido. A menos que se indique lo contrario, un motivo de modificación de nucleobases es independiente de la secuencia de nucleobases.

35 "Secuencia de nucleobase" significa el orden de las nucleobases contiguas independientemente de cualquier azúcar, enlace y/o modificación de nucleobase.

"Nucleósido" significa una nucleobase ligada a un azúcar.

40 "Mimético de nucleósidos" incluye aquellas estructuras usadas para reemplazar el azúcar o el azúcar y la base y no necesariamente el enlace en una o más posiciones de un compuesto oligomérico como, por ejemplo, miméticos de nucleósidos que tienen morfolino, ciclohexenilo, ciclohexilo, tetrahidropiranilo, miméticos de azúcar biciclo o triciclo, por ejemplo, unidades de azúcar no de furanosa. El mimético de nucleótidos incluye aquellas estructuras usadas para reemplazar el nucleósido y el enlace en una o más posiciones de un compuesto oligomérico como, por ejemplo, ácidos nucleicos peptídicos o morfolinos (morfolinos enlazados por -N(H)-C(=O)-O- o otro enlace no fosfodiéster). El sustituto del azúcar se superpone con el término ligeramente más amplio mimético de nucleósidos, pero se pretende que indique el reemplazo de la unidad de azúcar (anillo de furanosa) solamente. Los anillos de tetrahidropiranilo proporcionados en la presente son ilustrativos de un ejemplo de un sustituto de azúcar en el que el grupo de azúcar de furanosa se ha reemplazado con un sistema de anillo de tetrahidropiranilo.

50 "Mimético" se refiere a grupos que están sustituidos por un azúcar, nucleobase y/o enlace internucleosídico. En general, se usa un mimético en lugar de azúcar o la combinación de azúcar-enlaces-internucleosídico, y la nucleobase se mantiene para la hibridación a un objetivo seleccionado.

55 "Motivo de nucleósido" significa un patrón de modificaciones de nucleósidos en un oligonucleótido o una región del mismo. Los enlaces de dicho oligonucleótido pueden modificarse o no modificarse. A menos que se indique lo contrario, se entiende que los motivos en la presente que describen solo nucleósidos son motivos de nucleósidos. Por tanto, en tales casos, los enlaces no están limitados.

60 "Nucleótido" significa un nucleósido que tiene un grupo fosfato enlazado covalentemente a la porción de azúcar del nucleósido.

"Compuesto oligomérico" significa un polímero de subunidades monoméricas enlazadas que es capaz de hibridar con por lo menos una región de una molécula de ácido nucleico.

65 "Oligonucleósido" significa un oligonucleótido en el que los enlaces internucleosídicos no contienen un

átomo de fósforo.

"Oligonucleótido" significa un polímero de nucleósidos enlazados, cada uno de los cuales puede estar modificado o no modificado, independientemente uno del otro.

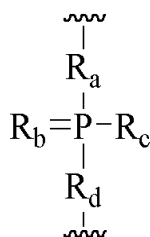
"Administración parenteral" significa la administración por inyección o infusión. La administración parenteral incluye administración subcutánea, administración intravenosa, administración intramuscular, administración intraarterial, administración intraperitoneal o administración intracraneal, por ejemplo, administración intratecal o intracerebroventricular.

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

"Sales farmacéuticamente aceptables" significa sales fisiológicamente y farmacéuticamente aceptables de compuestos antisentido, es decir, sales que retienen la actividad biológica deseada del oligonucleótido original y no imparten efectos toxicológicos no deseados al mismo.

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

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



en donde:

R_a y R_b son cada uno, independientemente, O, S, CH_2 , NH, o NJ_1 en donde J_1 es alquilo C_1-C_6 o alquilo C_1-C_6 sustituido;

R_b es O o S;

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

J_1 es R_b es O o S.

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

"Parte" significa un número definido de nucleobases contiguas (es decir, enlazadas) de un ácido nucleico. En ciertas realizaciones, una parte es un número definido de nucleobases contiguas de un ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, una parte es un número definido de nucleobases contiguas de un compuesto antisentido.

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

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

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

"Grupo protector" significa cualquier compuesto o grupo protector conocido por los expertos en la técnica. Ejemplos no limitativos de grupos protectores pueden encontrarse en "Protective Groups in Organic Chemistry", T. W. Greene, P. G. M. Wuts, ISBN 0-471-62301-6, John Wiley & Sons, Inc, Nueva York.

"Región" se define como una parte del ácido nucleico objetivo que tiene por lo menos una estructura, función o característica identificable.

5 "Ribonucleótido" significa un nucleótido que tiene un hidroxilo en la posición 2' de la porción de azúcar del nucleótido. Los ribonucleótidos pueden modificarse con cualquiera de una variedad de sustituyentes.

10 "Compuesto antisentido basado en RISC" significa un compuesto antisentido en el que por lo menos algo de la actividad antisentido del compuesto antisentido es atribuible al Complejo de Silenciamiento Inducido por ARN (RISC).

15 "Compuesto antisentido basado en RNasa H" significa un compuesto antisentido en el que por lo menos parte de la actividad antisentido del compuesto antisentido es atribuible a la hibridación del compuesto antisentido con un ácido nucleico objetivo y la posterior escisión del ácido nucleico objetivo por la RNasa H.

"Segmentos" se definen como partes más pequeñas o sub-porciones de regiones dentro de un ácido nucleico objetivo.

20 "Regiones separadas" significa partes de un oligonucleótido en el que las modificaciones químicas o el motivo de las modificaciones químicas de cualquier parte adyacente incluyen por lo menos una diferencia para permitir que las regiones separadas se distingan unas de otras

25 "Motivo de secuencia significa un patrón de nucleobases dispuestas a lo largo de un oligonucleótido o una parte del mismo. A menos que se indique lo contrario, un motivo de secuencia es independiente de las modificaciones químicas y, por tanto, puede tener cualquier combinación de modificaciones químicas, incluyendo modificaciones no químicas.

30 "Efectos secundarios" significa una enfermedad fisiológica y/o afecciones atribuibles a un tratamiento distinto de los efectos deseados. En ciertas realizaciones, los efectos secundarios incluyen reacciones en el sitio de la inyección, anomalías de la prueba de función hepática, anomalías de la función renal, toxicidad hepática, toxicidad renal, anomalías del sistema nervioso central, miopatías y malestar general. Por ejemplo, el aumento de los niveles de aminotransferasa en suero puede indicar toxicidad hepática o anomalía de la función hepática. Por ejemplo, el aumento de bilirrubina puede indicar toxicidad hepática o anomalía de la función hepática.

35 Los "sitios", como se usan en la presente, se definen como posiciones de nucleobases únicas dentro de un ácido nucleico objetivo.

"Retardar la progresión" significa una disminución en el desarrollo de dicha enfermedad.

40 "Específicamente hibridable" se refiere a un compuesto antisentido que tiene un grado suficiente de complementariedad entre un oligonucleótido antisentido y un ácido nucleico objetivo para inducir un efecto deseado, a la vez que muestra efectos mínimos o ninguno sobre los ácidos nucleicos no objetivo en condiciones en las que se desea una unión específica, es decir, bajo condiciones fisiológicas en el caso de ensayos *in vivo* y tratamientos terapéuticos. Las "condiciones de hibridación rigurosas" o "condiciones rigurosas" se refieren a las condiciones bajo las que un compuesto oligomérico se hibridará con su secuencia objetivo, pero con un número mínimo de otras secuencias.

"Sujeto" significa un humano o animal no humano seleccionado para tratamiento o terapia.

50 "Sustituyente" y "grupo sustituyente" significa un átomo o grupo que reemplaza el átomo o grupo de un compuesto original nombrado. Por ejemplo, un sustituyente de un nucleósido modificado es cualquier átomo o grupo que difiere del átomo o grupo encontrado en un nucleósido de origen natural (por ejemplo, un sustituyente 2' modificado es cualquier átomo o grupo en la posición 2' de un nucleósido distinto de H o OH). Los grupos sustituyentes pueden estar protegidos o no protegidos. En ciertas realizaciones, los compuestos de la presente divulgación tienen sustituyentes en una o en más de una posición del compuesto original. Los sustituyentes también pueden estar sustituidos adicionalmente con otros grupos sustituyentes y pueden estar unidos directamente o a través de un grupo de enlace como un grupo alquilo o hidrocarbilo a un compuesto original.

60 De igual manera, como se usa en la presente, "sustituyente" en referencia a un grupo funcional químico significa un átomo o grupo de átomos que difiere del átomo o un grupo de átomos normalmente presente en el grupo funcional nombrado. En ciertas realizaciones, un sustituyente reemplaza un átomo de hidrógeno del grupo funcional (por ejemplo, en ciertas realizaciones, el sustituyente de un grupo metilo sustituido es un átomo o grupo distinto del hidrógeno que reemplaza uno de los átomos de hidrógeno de un grupo metilo no sustituido). A menos que se indique lo contrario, los grupos susceptibles para su uso como sustituyentes incluyen, sin limitación, halógeno, hidroxilo, alquilo, alquenoilo, alquinoilo, acilo (-C(O)-Raa), carboxilo (-C(O)O-Raa), grupos alifáticos, grupos alicíclicos, alcoxi,

65

5
10
15

oxi sustituido (-O-Raa), arilo, aralquilo, radical heterocíclico, heteroarilo, heteroarilalquilo, amino (N (Rbb)¬(Rcc)), imino (=NRbb), amido (C(O)N¬(Rbb)(Rcc) o N(Rbb)C(O)Raa), azido (-N3), nitro (NO2), ciano (-CN), carbamido (OC(O)N(Rbb)¬(Rcc) o N(Rbb)¬C(O)¬ORaa), ureido (N(Rbb)C(O)¬N(Rbb)(Rcc)), tioureido (N(Rbb)C¬¬(S)N(Rbb)¬(Rcc)), guanidinilo (N(Rbb)¬C(=NRbb)¬N(Rbb)(Rcc)), amidinilo (C(=NRbb)¬¬N(Rbb)(Rcc) o N(Rbb)C(=NRbb)(Raa)), tiol (-SRbb), sulfmilo (S(O)Rbb), sulfonilo (-S(O)2Rbb) y sulfonamidilo (-S(O)2N(Rbb)(Rcc) o N(Rbb)¬S¬¬(O)2Rbb). En donde cada Raa, Rbb y Rcc es, independientemente, H, un grupo funcional químico opcionalmente enlazado o un grupo sustituyente adicional con una lista preferida que incluye, sin limitación, alquilo, alquenilo, alquinilo, alifático, alcoxi, acilo, arilo, aralquilo, heteroarilo, alicíclico, heterocíclico y heteroarilalquilo. Los sustituyentes seleccionados dentro de los compuestos descritos en la presente están presentes en un grado recursivo.

15

"Fracción de azúcar sustituida" significa un furanosilo que no es una fracción de azúcar de origen natural. Las fracciones de azúcar sustituidas incluyen, pero no están limitadas a furanosilos que comprenden sustituyentes en la posición 2', la posición 3', la posición 5' y/o la posición 4'. Ciertas fracciones de azúcar sustituidas son fracciones de azúcar bicíclico.

20

"Fracción de azúcar" significa una fracción de azúcar de origen natural o una fracción de azúcar modificada de un nucleósido.

20

"Motivo de azúcar significa un patrón de modificaciones de azúcar en un oligonucleótido o una región del mismo.

25
30
35

"Sustituto de azúcar" significa una estructura que no comprende un furanosilo y que es capaz de reemplazar la fracción de azúcar de origen natural de un nucleósido, de tal manera que las subunidades de nucleósidos resultantes son capaces de enlazarse entre sí y/o enlazarse con otros nucleósidos para formar un compuesto oligomérico que es capaz de hibridar con un compuesto oligomérico complementario. Tales estructuras incluyen anillos que comprenden un número diferente de átomos que el furanosilo (por ejemplo, anillos de 4, 6 o 7 miembros); reemplazo del oxígeno de un furanosilo con un átomo no de oxígeno (por ejemplo, carbono, azufre o nitrógeno); o tanto un cambio en el número de átomos como un reemplazo del oxígeno. Tales estructuras también pueden comprender sustituciones correspondientes a las descritas para fracciones de azúcar sustituidas (por ejemplo, sustitutos de azúcar carbocíclico bicíclico de 6 miembros que opcionalmente comprenden sustituyentes adicionales). Los sustitutos del azúcar también incluyen reemplazos de azúcar más complejos (por ejemplo, los sistemas sin anillo del ácido nucleico peptídico). Los sustitutos del azúcar incluyen, sin limitación, morfolinos, ciclohexenilos y ciclohexitoles.

35

"Objetivo" se refiere a una proteína, cuya modulación se desea.

"Gen objetivo" se refiere a un gen que codifica un objetivo.

40

"Dirigir" significa el proceso de diseño y selección de un compuesto antisentido que hibridará específicamente con un ácido nucleico objetivo e inducirá un efecto deseado.

45

"Ácido nucleico objetivo", "ARN objetivo", "transcripción de ARN objetivo" y "objetivo de ácido nucleico" significan un ácido nucleico capaz de ser atacado por compuestos antisentido.

"Región objetivo" significa una porción de un ácido nucleico objetivo a la que se dirige uno o más compuestos antisentido.

50

"Segmento objetivo" significa la secuencia de nucleótidos de un ácido nucleico objetivo al que se dirige un compuesto antisentido. "Sitio objetivo 5' " se refiere al nucleótido más 5' de un segmento objetivo. "Sitio objetivo 3' " se refiere al nucleótido más 3' de un segmento objetivo.

55

"Grupo terminal" significa uno o más átomos unidos a cualquiera de, o ambos, el extremo 3' o el extremo 5' de un oligonucleótido. En ciertas realizaciones, un grupo terminal es un grupo conjugado. En ciertas realizaciones, un grupo terminal comprende uno o más nucleósidos del grupo terminal.

"Enlace internucleosídico terminal" significa el enlace entre los dos últimos nucleósidos de un oligonucleótido o región definida del mismo.

60

"Cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de un agente farmacéutico que proporciona un beneficio terapéutico a un individuo.

65

"Tratar" se refiere a administrar una composición farmacéutica a un animal para efectuar una alteración o mejora de una enfermedad, trastorno o afección en el animal. En ciertas realizaciones, se pueden administrar una o más composiciones farmacéuticas al animal.

Nucleobases "no modificadas" significan las bases de purina adenina (A) y guanina (G), y las bases de pirimidina timina (T), citosina (C) y uracilo (U).

5 "Nucleótido no modificado" significa un nucleótido compuesto de nucleobases de origen natural, fracciones de azúcar y enlaces internucleosídicos. En ciertas realizaciones, un nucleótido no modificado es un nucleótido de ARN (es decir, β -D-ribonucleósidos) o un nucleótido de ADN (es decir, β -D-desoxirribonucleósido).

10 *Ciertas Realizaciones*

En ciertas realizaciones, un compuesto comprende un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazadas que tienen una secuencia de nucleobases que comprende la SEQ ID NO:440.

15 En ciertas realizaciones, un compuesto comprende un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende la SEQ ID NO:440

20 En ciertas realizaciones, cualquiera de los compuestos u oligonucleótidos anteriores puede comprender por lo menos un enlace internucleosídico modificado, por lo menos un azúcar modificado y/o por lo menos una nucleobase modificada.

25 En ciertos aspectos, cualquiera de los compuestos u oligonucleótidos anteriores puede comprender por lo menos un azúcar modificado. En ciertos aspectos, por lo menos un azúcar modificado comprende un grupo 2'-O-metoxietilo. En ciertos aspectos, por lo menos un azúcar modificado es un azúcar bicíclico como un grupo 4'-CH(CH₃)-O-2', un grupo 4'-CH₂-O-2', o un grupo 4'-(CH₂)₂-O-2'.

En ciertos aspectos, el oligonucleótido modificado comprende por lo menos un enlace internucleosídico modificado, como un enlace internucleosídico de fosforotioato.

30 En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado comprende por lo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, o 7 enlaces internucleosídicos de fosfodiéster.

En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado se selecciona de un enlace internucleosídico de fosfodiéster y un enlace internucleosídico de fosforotioato.

35 En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado es un enlace de fosforotioato.

40 En ciertas realizaciones, cualquiera de los compuestos u oligonucleótidos anteriores comprende por lo menos una nucleobase modificada, como 5-metilcitosina.

En ciertas realizaciones, un compuesto comprende un grupo conjugado y un oligonucleótido modificado que comprende:

45 un segmento de hueco que consiste de desoxinucleósidos enlazados;

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

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

en donde el segmento de hueco está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3' y en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar modificado.

55 En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende o consiste de la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 440, en donde el oligonucleótido modificado comprende:

un segmento de hueco que consiste de diez desoxinucleósidos enlazados;

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

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

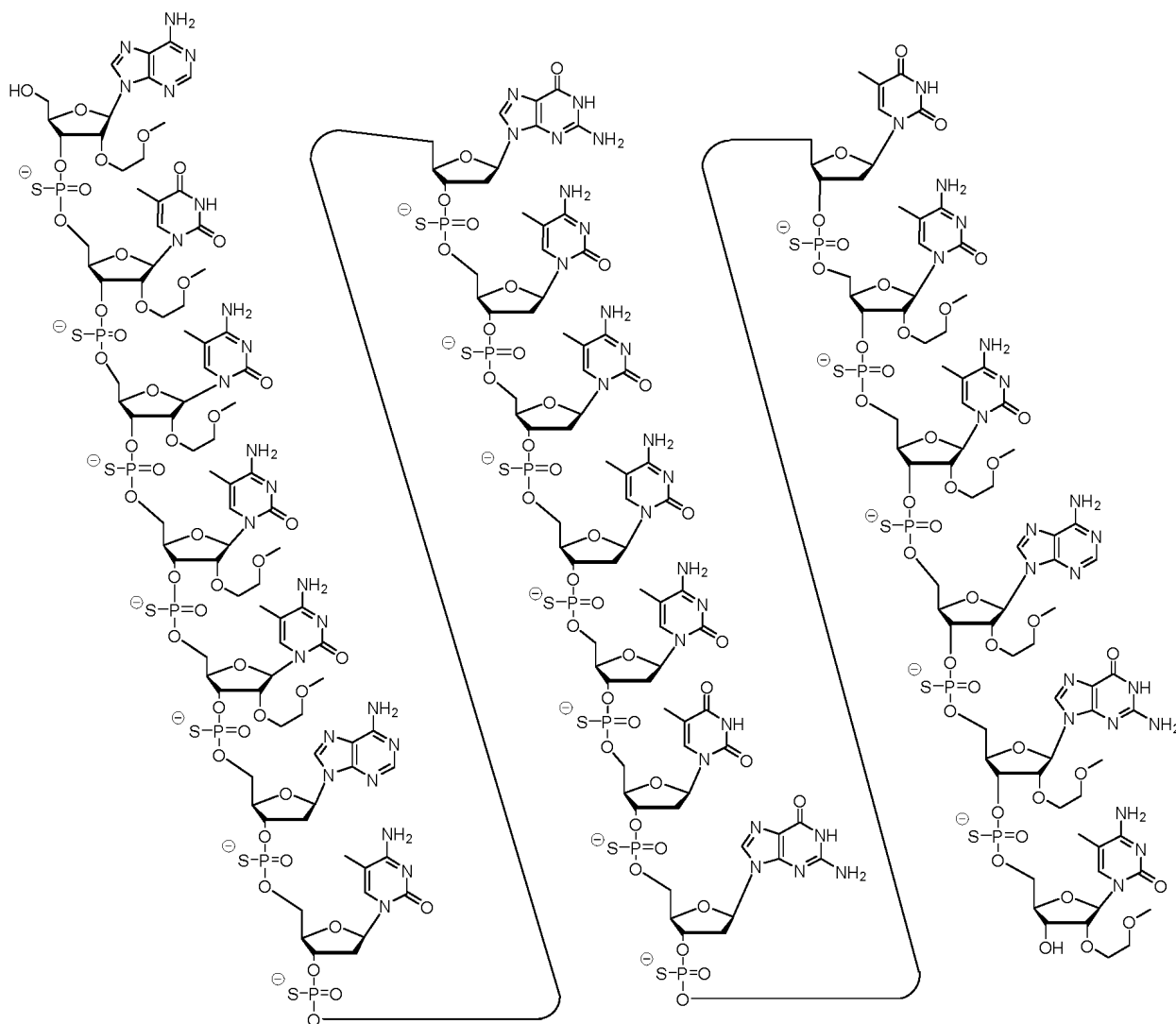
en donde el segmento de hueco está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3', en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar 2'-O-metoxietilo; en donde cada enlace internucleosídico es un enlace de fosforotioato y en donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

65

En ciertas realizaciones, un compuesto comprende o consiste de un oligonucleótido modificado de cadena sencilla y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 20 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que consiste de la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 440, en donde el oligonucleótido comprende:

- un segmento de hueco que consiste de diez desoxinucleósidos enlazados;
 - un segmento de ala 5' que consiste de cinco nucleósidos enlazados; y
 - un segmento de ala 3' que consiste de cinco nucleósidos enlazados;
- en donde el segmento de hueco está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3', en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar 2'-O-metoxietilo; en donde cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato; y en donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En ciertas realizaciones, un compuesto comprende o consiste de ISIS 588540 y un grupo conjugado. En ciertas realizaciones, ISIS 588540 tiene la siguiente estructura química:



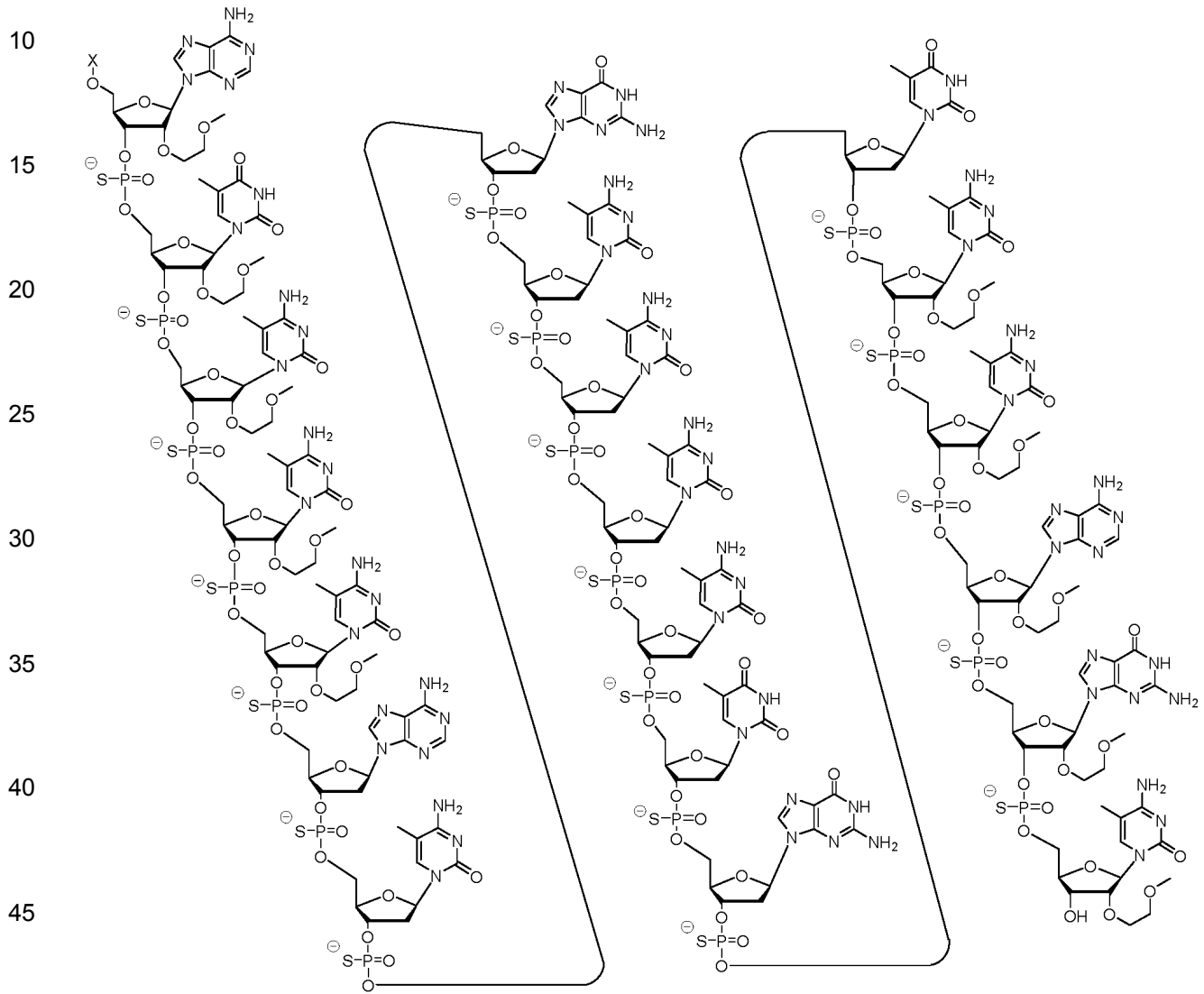
En cualquiera de las realizaciones anteriores, el compuesto u oligonucleótido puede ser por lo menos un 85%, por lo menos un 90%, por lo menos un 95%, por lo menos un 98%, por lo menos un 99% o 100% complementario a un ácido nucleico que codifica CFB.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, el compuesto u oligonucleótido puede ser de cadena sencilla.

En ciertas realizaciones, el grupo conjugado está enlazado al oligonucleótido modificado en el extremo 5' del oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, el grupo conjugado está enlazado al oligonucleótido

modificado en el extremo 3' del oligonucleótido modificado. El grupo conjugado comprende tres N-acetilgalactosaminas (GalNAc).

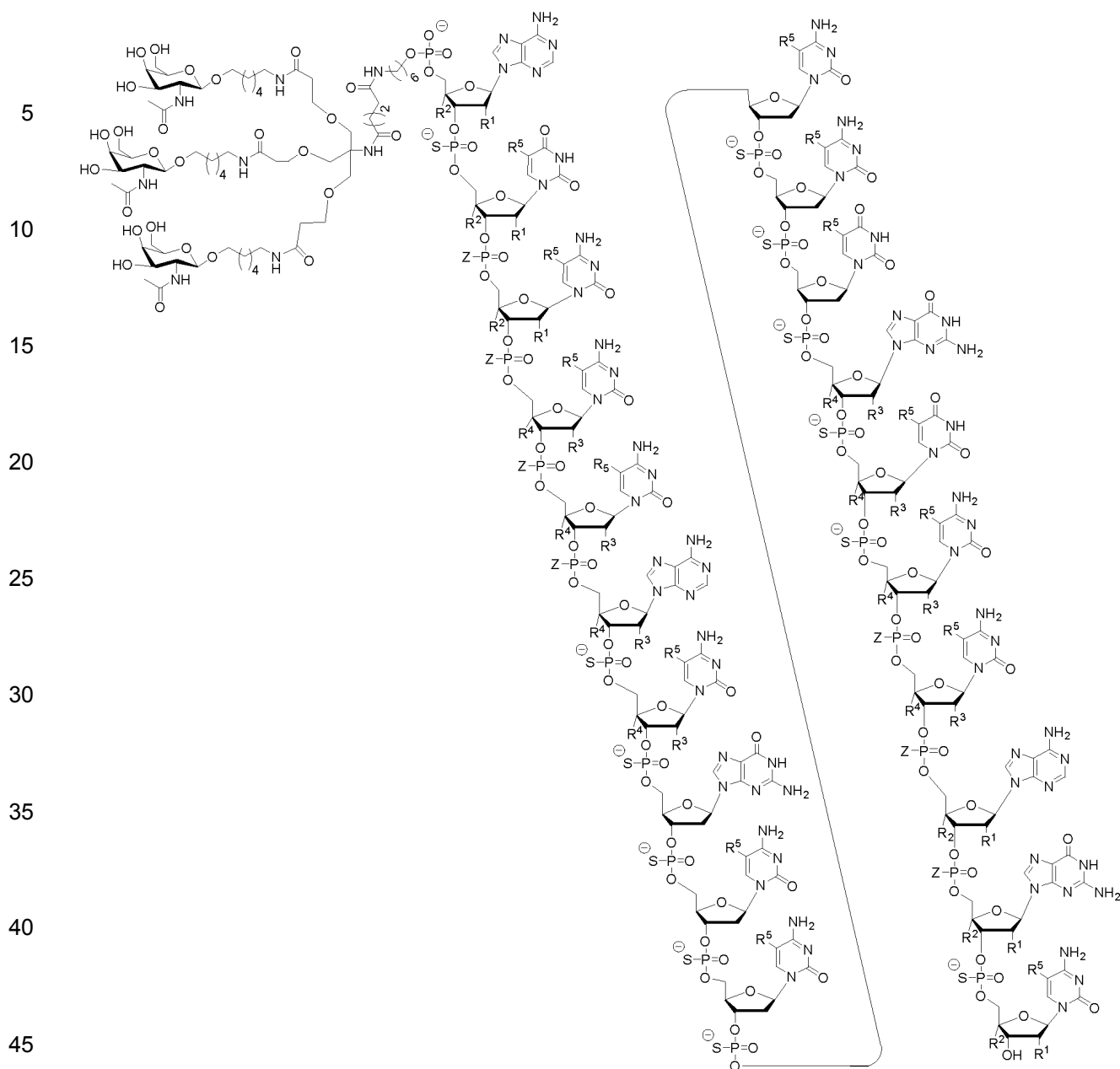
5 En ciertas realizaciones, un compuesto que tiene la siguiente estructura química comprende o consiste de ISIS 588540 con un 5'-X, en donde X es un grupo conjugado que comprende GalNAc como se define en las reivindicaciones:



55 En ciertas realizaciones, un compuesto comprende o consiste de la SEQ ID NO: 440, 5'-GalNAc, y modificaciones químicas como se representan por la estructura química siguiente:

60

65



50 en donde cualquier R^1 es $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ (MOE) y R^2 es H; o R^1 y R^2 juntos forman un puente en donde R^1 es $-\text{O}-$ y R^2 es $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, o $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, y R^1 y R^2 están directamente conectados de tal manera que el puente resultante se selecciona de: $-\text{O}-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ y $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$;

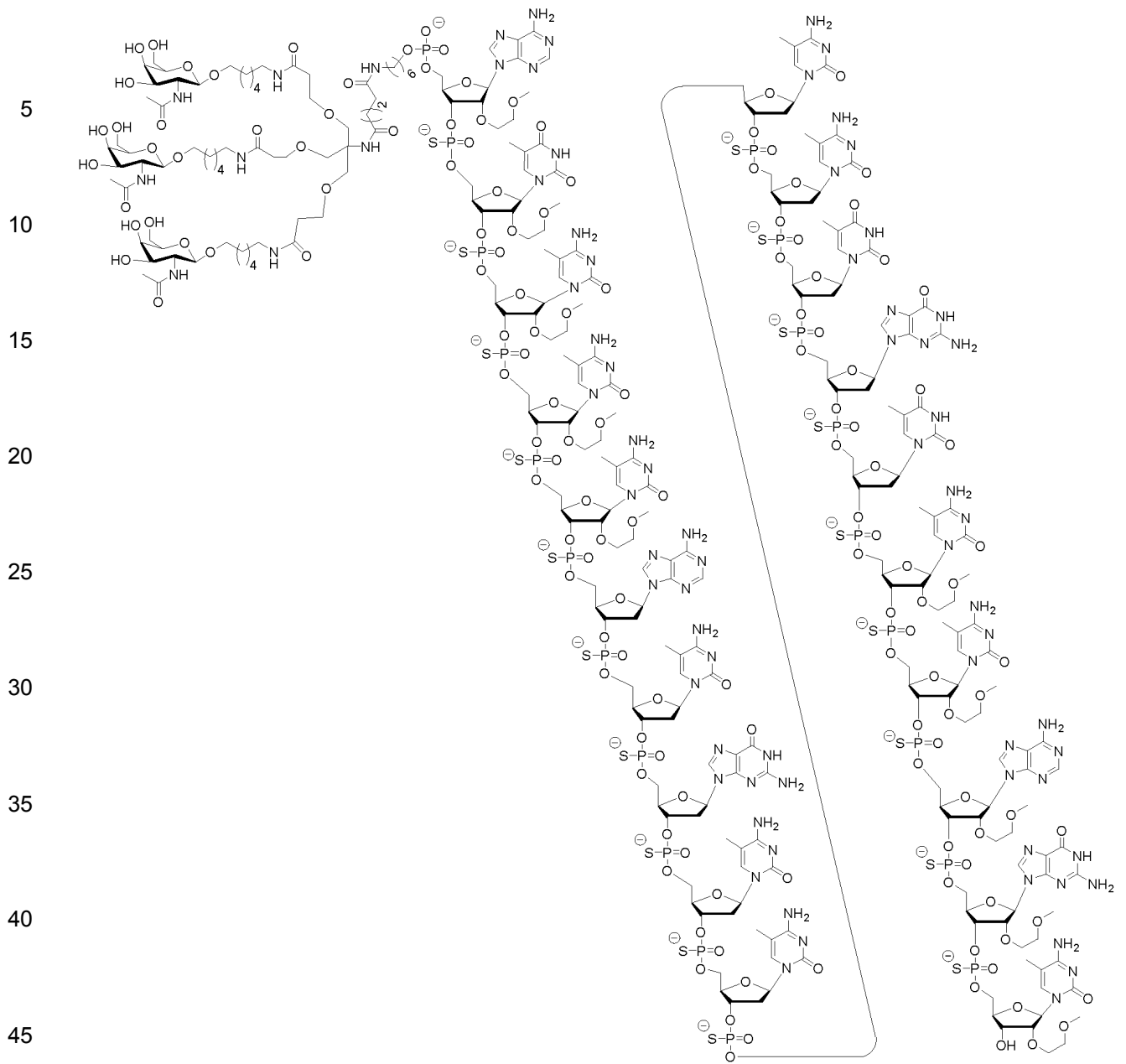
55 Y para cada par de R^3 y R^4 en el mismo anillo, independientemente para cada anillo: cualquier R^3 se selecciona de H y $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ y R^4 es H; o R^3 y R^4 juntos forman un puente, en donde R^3 es $-\text{O}-$, y R^4 es $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, o $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ y R^3 y R^4 están directamente conectados de tal manera que el puente resultante se selecciona de: $-\text{O}-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ y $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$;

Y R^5 se selecciona de H y $-\text{CH}_3$;

Y Z se selecciona de S^- y O.

60 En ciertas realizaciones, un compuesto comprende ISIS 696844. En ciertas realizaciones, un compuesto consiste de ISIS 696844. En ciertas realizaciones, ISIS 696844 tiene la siguiente estructura química:

65



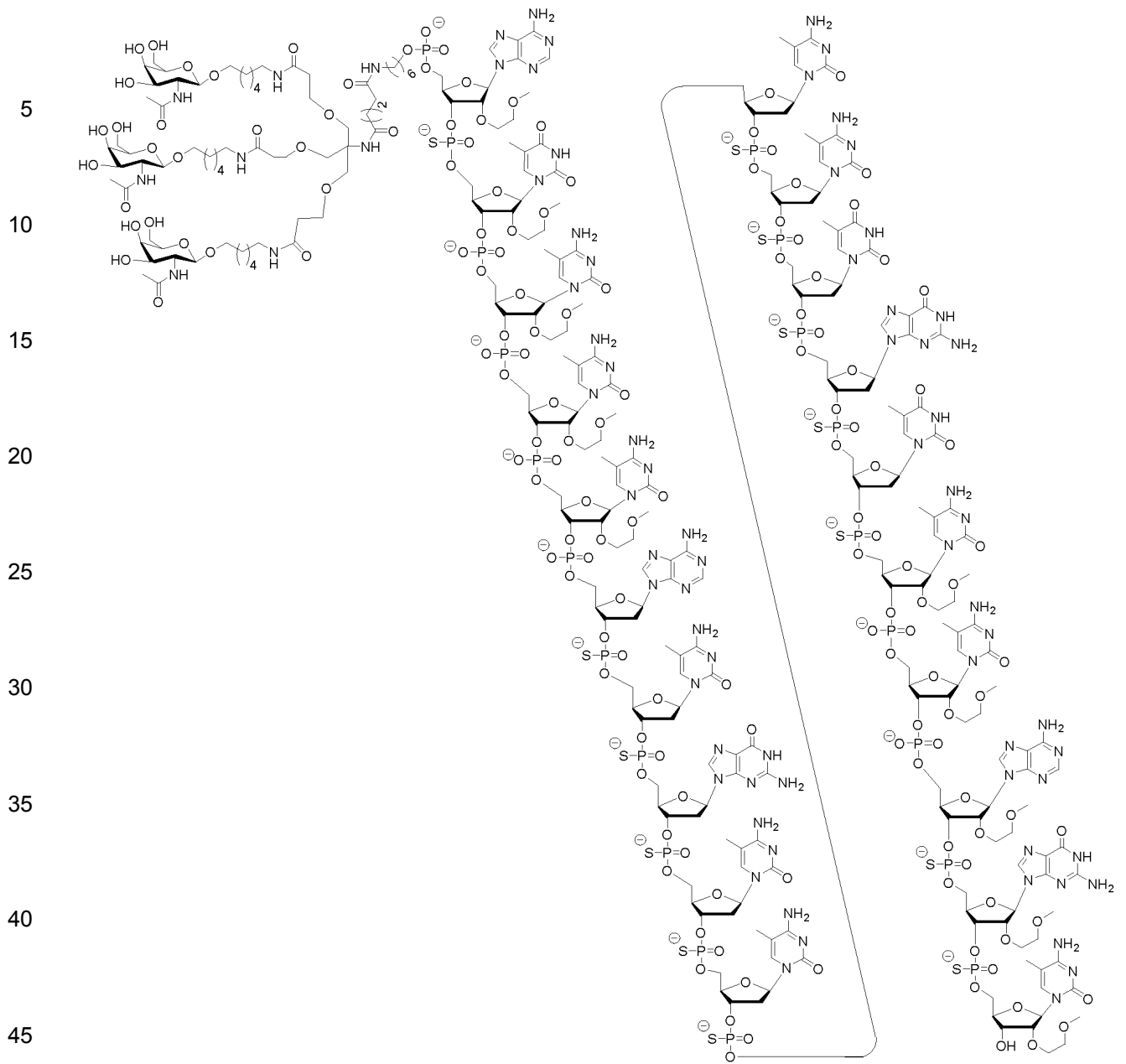
En ciertas realizaciones, un compuesto comprende ISIS 696845. En ciertas realizaciones, un compuesto consiste de ISIS 696845. En ciertas realizaciones, ISIS 696845 tiene la siguiente estructura química:

50

55

60

65

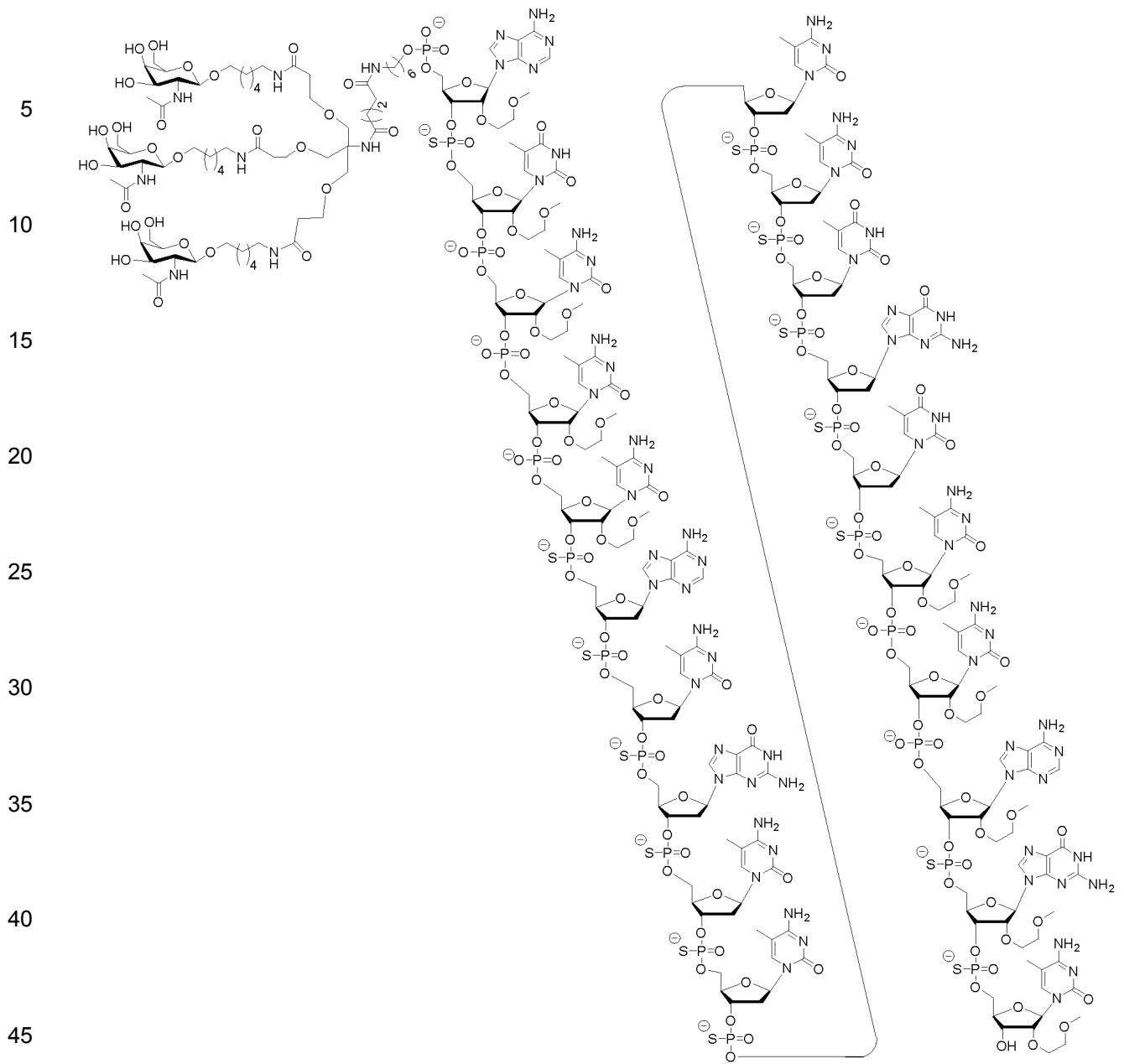


50 En ciertas realizaciones, un compuesto comprende ISIS 698969. En ciertas realizaciones, un compuesto
 consiste de ISIS 698969. En ciertas realizaciones, ISIS 698969 tiene la siguiente estructura química:

55

60

65



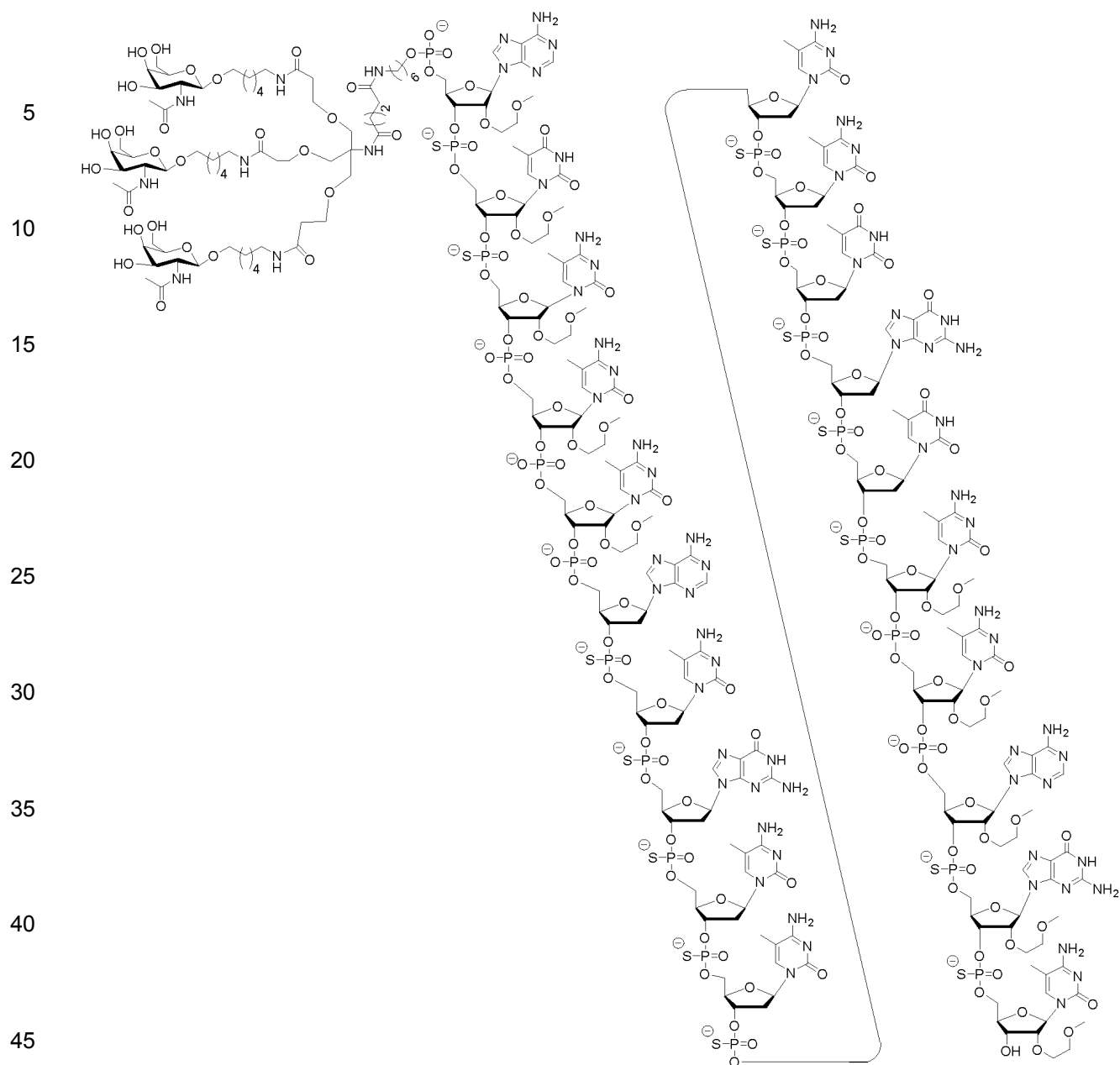
En ciertas realizaciones, un compuesto comprende ISIS 698970. En ciertas realizaciones, un compuesto consiste de ISIS 698970. En ciertas realizaciones, ISIS 698970 tiene la siguiente estructura química:

50

55

60

65



Ciertas realizaciones incluyen composiciones que comprenden cualquiera de los compuestos que comprenden o que consisten de un oligonucleótido modificado dirigido a CFB o una sal del mismo y un grupo conjugado, y por lo menos uno de un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En ciertas realizaciones, los compuestos o composiciones como se describen en la presente son eficaces en virtud de tener al menos uno de un IC_{50} *in vitro* de menos de 250 nM, menos de 200 nM, menos de 150 nM, menos de 100 nM, menos de 90 nM, menos de 80 nM, menos de 70 nM, menos de 65 nM, menos de 60 nM, menos de 55 nM, menos de 50 nM, menos de 45 nM, menos de 40 nM, menos de 35 nM, menos de 30 nM, menos de 25 nM, o menos de 20 nM.

En ciertas realizaciones, los compuestos o composiciones como se describen en la presente son altamente tolerables como lo demuestran teniendo por lo menos uno de un aumento de un valor de ALT o AST de no más de 4 veces, 3 veces o 2 veces sobre los animales tratados con solución salina o un aumento en el peso del hígado, bazo o riñón de no más del 30%, 20%, 15%, 12%), 10%, 5% o 2%. En ciertas realizaciones, los compuestos o composiciones como se describen la presente son altamente tolerables como lo demuestran no teniendo un aumento de ALT o AST sobre los animales tratados con solución salina. En ciertas realizaciones, los compuestos o composiciones como se describen en la presente son altamente tolerables como lo demuestran no teniendo un aumento en el peso del hígado, bazo o riñón sobre los animales tratados con solución salina.

5 Ciertas realizaciones divulgan una composición que comprende el compuesto de cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente o una sal del mismo y por lo menos uno de un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. En ciertos aspectos, la composición tiene una viscosidad de menos de aproximadamente 40 centipoise (cP), menos de aproximadamente 30 centipoise (cP), menos de aproximadamente 20 centipoise (cP), menos de aproximadamente 15 centipoise (cP) o de menos de aproximadamente 10 centipoise (cP). En ciertos aspectos, la composición que tiene cualquiera de las viscosidades mencionadas anteriormente comprende un compuesto divulgado en la presente a una concentración de aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 125 mg/ml, aproximadamente 150 mg/ml, aproximadamente 175 mg/ml, aproximadamente 200 mg/ml, aproximadamente 225 mg/ml, aproximadamente 250 mg/ml, aproximadamente 275 mg/ml, o aproximadamente 300 mg/ml. En ciertos aspectos, la composición que tiene cualquiera de las viscosidades y/o concentraciones de compuesto mencionadas anteriormente tiene una temperatura de temperatura ambiente o aproximadamente 20° C, aproximadamente 21° C, aproximadamente 22° C, aproximadamente 23° C, aproximadamente 24° C, aproximadamente 25° C, aproximadamente 26° C, aproximadamente 27° C, aproximadamente 28° C, aproximadamente 29° C, o aproximadamente 30° C.

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

35 En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular, como la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto o composición descrito en la presente, tratando, previniendo o mejorando de este modo la DMAE. En ciertos aspectos, la vía alternativa del complemento se activa más de lo normal. En ciertos aspectos, la DMAE es DMAE húmeda. En ciertos aspectos, la DMAE es DMAE seca, como Atrofia Geográfica. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular en un sujeto, como la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), DMAE húmeda, DMAE seca o Atrofia Geográfica comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-808. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular, como la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), DMAE húmeda, DMAE seca o Atrofia Geográfica en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobase que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular, como la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), DMAE húmeda, DMAE seca o Atrofia Geográfica en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970. En ciertos aspectos, el compuesto o composición se administra al sujeto por vía parenteral.

55 En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad renal asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto o composición descrito en la presente, tratando, previniendo o mejorando de este modo la enfermedad renal. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad renal asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-808. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad renal asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste

de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad renal asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970. En ciertos aspectos, la vía alternativa del complemento se activa más de lo normal. En ciertos aspectos, la enfermedad renal es nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósitos densos (DDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5, o síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS), o cualquier combinación de las mismas. En ciertos aspectos, la enfermedad renal está asociada con depósitos de C3, como depósitos de C3 en el glomérulo. En ciertos aspectos, la enfermedad renal está asociada con niveles de C3 circulantes más bajos de lo normal, como niveles de C3 en suero o plasma. En ciertos aspectos, la administración del compuesto o composición reduce o inhibe la acumulación de niveles de C3 oculares, como los niveles de proteína C3. En ciertos aspectos, la administración del compuesto o composición reduce el nivel de depósitos de C3 oculares o inhibe la acumulación de depósitos de C3 oculares. En ciertos aspectos, el compuesto o composición se administra al sujeto por vía parenteral. En ciertos aspectos, la administración del compuesto o composición reduce o inhibe la acumulación de niveles de C3 en el riñón, como los niveles de proteína de C3. En ciertos aspectos, la administración del compuesto o composición reduce el nivel de depósitos de C3 en el riñón o inhibe la acumulación de depósitos de C3 en el riñón, como los niveles de C3 en el glomérulo. En ciertos aspectos, se identifica que el sujeto tiene o está en riesgo de tener una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento, por ejemplo, detectando niveles de complemento o niveles complejos de membrana-ataque en la sangre del sujeto y/o realizando una prueba genética para mutaciones genéticas de factores del complemento asociados con la enfermedad.

En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para inhibir la expresión del Factor B del Complemento (CFB) en un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar un compuesto o composición descritos en la presente al sujeto, inhibiendo de este modo la expresión de CFB en el sujeto. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para inhibir la expresión del Factor B del Complemento (CFB) en un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-808. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para inhibir la expresión del Factor B del Complemento (CFB) en un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para inhibir la expresión del Factor B del Complemento (CFB) en un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970. En ciertos aspectos, la administración del compuesto o composición inhibe la expresión de CFB en el ojo. En ciertos aspectos, el sujeto tiene, o está en riesgo de tener, degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), como DMAE húmeda y DMAE seca. En ciertos aspectos, la DMAE seca puede ser Atrofia Geográfica. La Atrofia Geográfica se considera una forma avanzada de DMAE seca que implica la degeneración de la retina. En ciertos aspectos, la administración del compuesto o composición inhibe la expresión de CFB en el riñón, como en el glomérulo. En ciertos aspectos, el sujeto tiene, o está en riesgo de tener, nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósitos densos (DDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5, o síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS), o cualquier combinación de las mismas.

En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar un compuesto o composición descritos en la presente al sujeto, reduciendo o inhibiendo de este modo la acumulación de depósitos de C3 en el ojo del sujeto. En ciertas realizaciones, un método para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-808. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549, y 598. En ciertas realizaciones de la divulgación, un método para reducir o inhibir la

acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o consiste de ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970. En ciertos aspectos, el sujeto tiene, o está en riesgo de tener, degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), como DMAE húmeda y DMAE seca. En ciertos aspectos, la DMAE seca puede ser Atrofia Geográfica. En ciertos aspectos, el compuesto o composición se administra al sujeto por vía parenteral.

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

Ciertas realizaciones de la divulgación están dirigidas al uso de un compuesto o composición descritos en la presente para tratar una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento. Ciertas realizaciones de la divulgación están dirigidas al uso de un compuesto que comprende o que consiste de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-808, para tratar una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento. Ciertas realizaciones de la divulgación están dirigidas al uso de un compuesto que comprende o consiste de un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598, para tratar una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento. Ciertas realizaciones están dirigidas al uso de un compuesto que comprende o consiste de ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970 para tratar una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento. En ciertos aspectos, la vía alternativa del complemento se activa más de lo normal. En ciertos aspectos, la enfermedad es degeneración macular, como la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), que puede ser DMAE húmeda o DMAE seca. En ciertos aspectos, la DMAE seca puede ser Atrofia Geográfica. En ciertos aspectos, la enfermedad es una enfermedad renal como nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósitos densos (DDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5, o síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS), o cualquier combinación de las mismas. En ciertos aspectos, el compuesto o composición se administra al sujeto por vía parenteral.

En ciertas realizaciones, un compuesto o composición descrito en la presente se administra por vía parenteral. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el compuesto o composición puede administrarse mediante inyección o infusión. La administración parenteral incluye administración subcutánea, administración intravenosa, administración intramuscular, administración intraarterial, administración intraperitoneal, o administración intracraneal, por ejemplo, administración intratecal o intracerebroventricular.

Compuestos antisentido

Los compuestos oligoméricos incluyen, pero no están limitados a, oligonucleótidos, oligonucleósidos, análogos de oligonucleótidos, miméticos de oligonucleótidos, compuestos antisentido, oligonucleótidos antisentido, y ARNip. Un compuesto oligomérico puede ser "antisentido" para un ácido nucleico objetivo, lo que significa que es capaz de experimentar hibridación con un ácido nucleico objetivo a través de enlaces de hidrógeno.

En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una secuencia de nucleobases que, cuando se escribe en la dirección 5' a 3', comprende el complemento inverso del segmento objetivo de un ácido nucleico

objetivo al que está dirigido.

5 En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 10 a 30 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 12 a 30 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 12 a 22 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 14 a 30 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 14 a 20 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 15 a 30 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 15 a 20 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 16 a 30 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 16 a 20 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 17 a 30 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 17 a 20 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 a 30 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 a 21 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 a 20 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 20 a 30 subunidades. En otras palabras, tales compuestos antisentido tienen de 12 a 30 subunidades enlazadas, 14 a 30 subunidades enlazadas, 14 a 20 subunidades, 15 a 30 subunidades, 15 a 20 subunidades, 16 a 30 subunidades, 16 a 20 subunidades, 17 a 30 subunidades, 17 a 20 subunidades, 18 a 30 subunidades, 18 a 20 subunidades, 18 a 21 subunidades, 20 a 30 subunidades o 12 a 22 subunidades enlazadas, respectivamente.

10 En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene 14 subunidades de longitud. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene 16 subunidades de longitud. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene 17 subunidades de longitud. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene 18 subunidades de longitud. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene 19 subunidades de longitud. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene 20 subunidades de longitud. En otras realizaciones, el compuesto antisentido tiene de 8 a 80, 12 a 50, 13 a 30, 13 a 50, 14 a 30, 14 a 50, 15 a 30, 15 a 50, 16 a 30, 16 a 50, 17 a 30, 17 a 50, 18 a 22, 18 a 24, 18 a 30, 18 a 50, 19 a 22, 19 a 30, 19 a 50, o 20 a 30 subunidades enlazadas. En ciertas de tales realizaciones, los compuestos antisentido tienen 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, u 80 subunidades enlazadas de longitud, o un intervalo definido por dos cualquiera de los valores anteriores. En algunas realizaciones, el compuesto antisentido es un oligonucleótido antisentido, y las subunidades enlazadas son nucleótidos.

15

20

25

30

35 En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos antisentido pueden acortarse o truncarse. Por ejemplo, una subunidad individual puede eliminarse del extremo 5' (truncamiento 5'), o alternativamente del extremo 3' (truncamiento 3'). Un compuesto antisentido acortado o truncado dirigido a un ácido nucleico de CFB puede tener dos subunidades eliminadas del extremo 5', o alternativamente puede tener dos subunidades eliminadas del extremo 3' del compuesto antisentido. Alternativamente, los nucleósidos eliminados pueden dispersarse por todo el compuesto antisentido, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene un nucleósido eliminado del extremo 5' y un nucleósido eliminado del extremo 3'.

40

45 Cuando una subunidad adicional individual está presente en un compuesto antisentido alargado, la subunidad adicional puede estar localizada en el extremo 5' o el 3' del compuesto antisentido. Cuando están presentes dos o más subunidades adicionales, las subunidades añadidas pueden ser adyacentes entre sí, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene dos subunidades añadidas al extremo 5' (adición 5'), o alternativamente al extremo 3' (adición 3'), del compuesto antisentido. Alternativamente, las subunidades añadidas pueden dispersarse por todo el compuesto antisentido, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene una subunidad añadida al extremo 5' y una subunidad añadida al extremo 3'.

50

55 Es posible aumentar o disminuir la longitud de un compuesto antisentido, como un oligonucleótido antisentido, y/o introducir bases malapareadas sin eliminar la actividad. Por ejemplo, en Woolf et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309, 1992), se probaron una serie de oligonucleótidos antisentido de 13-25 nucleobases de longitud para determinar su capacidad para inducir la escisión de un ARN objetivo en un modelo de inyección de ovocitos. Los oligonucleótidos antisentido de 25 nucleobases de longitud con 8 u 11 bases malapareadas cerca de los extremos de los oligonucleótidos antisentido fueron capaces de dirigir la escisión específica del ARNm objetivo, aunque en menor medida que los oligonucleótidos antisentido que no contenían malapareamientos. De manera similar, la escisión específica del objetivo se logró usando oligonucleótidos antisentido de 13 nucleobases, incluyendo aquellos con 1 o 3 malapareamientos.

60

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

Maher y Dolnick (Nuc. Acid. Res. 16:3341-3358, 1988) probaron una serie de oligonucleótidos antisentido de 14 nucleobases en tándem y oligonucleótidos antisentido de 28 y 42 nucleobases compuestos de la secuencia de

dos o tres de los oligonucleótidos antisentido en tándem, respectivamente, para su capacidad para detener la traducción de DHFR humana en un ensayo de reticulocitos de conejo. Cada uno de los tres oligonucleótidos antisentido de 14 nucleobases solo, fue capaz de inhibir la traducción, aunque a un nivel más modesto que los oligonucleótidos antisentido de 28 o 42 nucleobases.

5

Ciertos motivos y mecanismos de compuestos antisentido

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido tienen subunidades modificadas químicamente dispuestas en patrones, o motivos, para conferir a los compuestos antisentido propiedades como actividad inhibidora mejorada, afinidad de unión aumentada para un ácido nucleico objetivo, o resistencia a la degradación por nucleasas *in vivo*.

10

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

15

La actividad antisentido puede ser el resultado de cualquier mecanismo que implique la hibridación del compuesto antisentido (por ejemplo, oligonucleótido) con un ácido nucleico objetivo, en donde la hibridación en última instancia da como resultado un efecto biológico. En ciertas realizaciones, la cantidad y/o actividad del ácido nucleico objetivo está modulada. En ciertas realizaciones, la cantidad y/o actividad del ácido nucleico objetivo está reducida. En ciertas realizaciones, la hibridación del compuesto antisentido con el ácido nucleico objetivo da como resultado en última instancia una degradación del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, la hibridación del compuesto antisentido con el ácido nucleico objetivo no da como resultado la degradación del ácido nucleico objetivo. En ciertas de tales realizaciones, la presencia del compuesto antisentido hibridado con el ácido nucleico objetivo (ocupación) da como resultado una modulación de la actividad antisentido. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido que tienen un motivo químico particular o un patrón de modificaciones químicas son particularmente adecuados para explotar uno o más mecanismos. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido funcionan a través de más de un mecanismo y/o a través de mecanismos que no se han dilucidado. Por consiguiente, los compuestos antisentido descritos en la presente no están limitados por un mecanismo particular.

20

25

30

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

35

Antisentido mediado por RNasa H

En ciertas realizaciones, la actividad antisentido es resultado por lo menos en parte de la degradación del ARN objetivo por la RNasa H. La RNasa H es una endonucleasa celular que escinde la cadena de ARN de un dúplex de ARN:ADN. Se sabe en la técnica que los compuestos antisentido de cadena sencilla que son "similares a ADN" provocan la actividad de RNasa H en células de mamífero. Por consiguiente, los compuestos antisentido que comprenden por lo menos una parte de ADN o nucleósidos similares a ADN pueden activar la RNasa H, dando como resultado la escisión del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido que utilizan RNasa H comprenden uno o más nucleósidos modificados. En ciertas realizaciones, tales compuestos antisentido comprenden por lo menos un bloque de 1-8 nucleósidos modificados. En ciertas de tales realizaciones, los nucleósidos modificados no soportan la actividad de la RNasa H. En ciertas realizaciones, tales compuestos antisentido son gapmers, como se describe en la presente. En ciertas de tales realizaciones, el hueco del gapmer comprende nucleósidos de ADN. En ciertas de tales realizaciones, el hueco del gapmer comprende nucleósidos similares a ADN. En ciertas de tales realizaciones, el hueco del gapmer comprende nucleósidos de ADN y nucleósidos similares a ADN.

40

45

50

Ciertos compuestos antisentido que tienen un motivo gapmer se consideran compuestos antisentido quiméricos. En un gapmer, una región interna que tiene una pluralidad de nucleótidos que apoya la escisión de la RNasaH está colocado entre regiones externas que tienen una pluralidad de nucleótidos que son químicamente distintos de los nucleósidos de la región interna. En el caso de un oligonucleótido antisentido que tiene un motivo gapmer, el segmento de hueco sirve generalmente como sustrato para la escisión de la endonucleasa, mientras que los segmentos del ala comprenden nucleósidos modificados. En ciertas realizaciones, las regiones de un gapmer se diferencian por los tipos de fracciones de azúcar que comprenden cada región distinta. Los tipos de fracciones de azúcar que se usan para diferenciar las regiones de un gapmer pueden incluir en algunas realizaciones β -D-ribonucleósidos, β -D-desoxirribonucleósidos, nucleósidos 2'-modificados (tales nucleósidos 2'-modificados pueden incluir 2'-MOE y 2'-O-CH₃, entre otros), y nucleósidos modificados con azúcares bicíclicos (tales nucleósidos modificados con azúcares bicíclicos pueden incluir aquellos que tienen un etilo restringido). En ciertas realizaciones, los nucleósidos en las alas pueden incluir varias fracciones de azúcar modificado incluyendo, por ejemplo, 2'-MOE y

60

65

fracciones de azúcares bicíclicos como etilo restringido o LNA. En ciertas realizaciones, las alas pueden incluir varias fracciones de azúcar modificado y no modificado. En ciertas realizaciones, las alas pueden incluir varias combinaciones de nucleósidos 2'-MOE, fracciones de azúcares bicíclico como nucleósidos de etilo restringidos o nucleósidos de LNA y 2'-desoxinucleósidos.

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

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

En ciertas realizaciones, el oligonucleótido antisentido tiene un motivo de azúcar descrito por la fórmula A de la siguiente manera: $(J)_m-(B)_n-(J)_p-(B)_r-(A)_t-(D)_g-(A)_v-(B)_w-(J)_x-(B)_y-(J)_z$ en donde:

25 cada A es independientemente un nucleósido 2'-sustituido;
 cada B es independientemente un nucleósido bicíclico;
 cada J es independientemente un nucleósido 2'-sustituido o un 2'-desoxinucleósido;
 cada D es un 2'-desoxinucleósido;
 m es 0-4; n es 0-2; p es 0-2; r es 0-2; t es 0-2; v es 0-2; w es 0-4; x es 0-2; y es 0-2; z es 0-4; g es 6-14;

30 siempre que:

por lo menos uno de m, n y r sea distinto de 0;
 por lo menos uno de w y y sea distinto de 0;
 35 la suma de m, n, p, r y t sea de 2 a 5; y
 la suma de v, w, x, y y z sea de 2 a 5.

Compuestos de ARNi

40 En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son compuestos de ARN interferente (ARNi), que incluyen compuestos de ARN de cadena doble (también denominados ARN interferente corto o ARNip) y compuestos de ARNi de cadena sencilla (o ARNmc). Tales compuestos funcionan por lo menos en parte a través de la vía RISC para degradar y/o secuestrar un ácido nucleico objetivo (por tanto, incluyen compuestos de microARN/mímico de microARN). En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido comprenden modificaciones que los hacen particularmente adecuados para tales mecanismos.

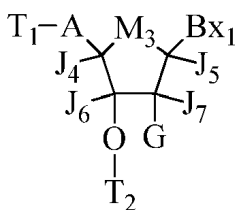
i. Compuestos de ARNmc

50 En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido incluyendo aquellos particularmente adecuados para su uso como compuestos de ARNi de cadena sencilla (ARNmc) comprenden un extremo 5'-terminal modificado. En ciertas de tales realizaciones, el extremo 5'-terminal comprende una fracción de fosfato modificado. En ciertas realizaciones, dicho fosfato modificado está estabilizado (por ejemplo, resistente a la degradación/escisión en comparación con el 5'-fosfato no modificado). En ciertas realizaciones, tales nucleósidos 5'-terminales estabilizan la fracción de 5'-fósforo. Ciertos nucleósidos 5'-terminales modificados pueden encontrarse en la técnica, por ejemplo en la WO/2011/139702.

En ciertas realizaciones, el 5'-nucleósido de un compuesto de ARNmc tiene la Fórmula IIc:

60

65



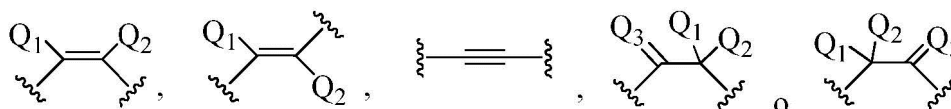
IIc

en donde:

T₁ es un fracción de fósforo opcionalmente protegida;

T₂ es un grupo de enlace internucleosídico que enlaza el compuesto de Fórmula IIc con el compuesto oligomérico;

A tiene una de las fórmulas:



Q₁ y Q₂ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆, alquino C₂-C₆ sustituido o N(R₃)(R₄);

Q₃ es O, S, N(R₅) o C(R₆)(R₇);

cada R₃, R₄, R₅, R₆ y R₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido o alcoxi C₁-C₆;

M₃ es O, S, NR₁₄, C(R₁₅)(R₁₆), C(R₁₅)(R₁₆)C(R₁₇)(R₁₈), C(R₁₅)=C(R₁₇), OC(R₁₅)(R₁₆) o OC(R₁₅)(Bx₂);

R₁₄ es H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

R₁₅, R₁₆, R₁₇ y R₁₈ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

Bx₁ es un fracción de base heterocíclica;

o si Bx₂ está presente, entonces Bx₂ es una fracción de base heterocíclica y Bx₁ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

J₄, J₅, J₆ y J₇ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

o J₄ forma un puente con uno de J₅ o J₇ en donde dicho puente comprende de 1 a 3 grupos birradicales enlazados seleccionados de O, S, NR₁₉, C(R₂₀)(R₂₁), C(R₂₀)=C(R₂₁), C[=C(R₂₀)(R₂₁)] y C(=O) y los otros dos de J₅, J₆ y J₇ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

cada R₁₉, R₂₀ y R₂₁ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

G es H, OH, halógeno o O-[C(R₈)(R₉)]_n[(C=O)_m-X₁]_j-Z;

cada R₈ y R₉ es, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

X₁ es O, S o N (E₁);

Z es H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆, alquino C₂-C₆ sustituido o N(E₂)(E₃);

E₁, E₂ y E₃ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

n es de 1 a aproximadamente 6;

m es 0 o 1;

j es 0 o 1;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de halógeno, OJ₁, N(J₁)(J₂), =NJ₁, SJ₁, N₃, CN, OC(=X₂)J₁, OC(=X₂)N(J₁)(J₂) y C(=X₂)N(J₁)(J₂);

X₂ es O, S o NJ₃

cada J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆;

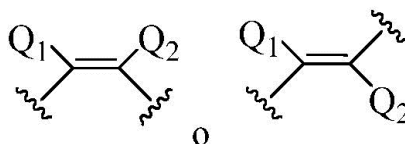
cuando j es 1, Z es distinto de halógeno o N(E₂)(E₃); y

en donde dicho compuesto oligomérico comprende de 8 a 40 subunidades monoméricas y puede hibridar con por lo menos una parte de un ácido nucleico objetivo.

En ciertas realizaciones, M₃ es O, CH=CH, OCH₂ o OC(H)(Bx₂). En ciertas realizaciones, M₃ es O.

En ciertas realizaciones, J₄, J₅, J₆ y J₇ son cada uno H. En ciertas realizaciones, J₄ forma un puente con uno de J₅ o J₇.

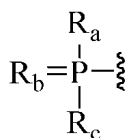
En ciertas realizaciones, A tiene una de las fórmulas:



en donde:

Q₁ y Q₂ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido. En ciertas realizaciones, Q₁ y Q₂ son cada uno H. En ciertas realizaciones, Q₁ y Q₂ son cada uno, independientemente, H o halógeno. En ciertas realizaciones, Q₁ y Q₂ es H y el otro de Q₁ y Q₂ es F, CH₃ o OCH₃.

En ciertas realizaciones, T₁ tiene la fórmula:

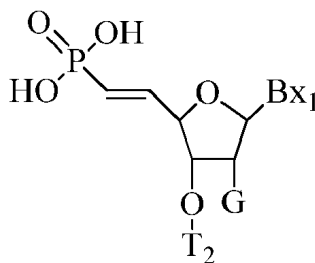


en donde:

R_a y R_c son cada uno, independientemente, hidroxilo protegido, tiol protegido, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, amino protegido o amino sustituido; y R_b es O o S. En ciertas realizaciones, R_b es O y R_a y R_c son cada uno, independientemente, OCH₃, OCH₂CH₃ o CH(CH₃)₂.

En ciertas realizaciones, G es halógeno, OCH₃, OCH₂F, OCHF₂, OCF₃, OCH₂CH₃, O(CH₂)₂F, OCH₂CHF₂, OCH₂CF₃, OCH₂-CH=CH₂, O(CH₂)₂-OCH₃, O(CH₂)₂-SCH₃, O(CH₂)₂-OCF₃, O(CH₂)₃-N(R₁₀)(R₁₁), O(CH₂)₂-ON(R₁₀)(R₁₁), O(CH₂)₂-O(CH₂)₂-N(R₁₀)(R₁₁), OCH₂C(=O)-N(R₁₀)(R₁₁), OCH₂C(=O)-N(R₁₂)-(CH₂)₂-N(R₁₀)(R₁₁) o O(CH₂)₂-N(R₁₂)-C(=NR₁₃)[N(R₁₀)(R₁₁)] en donde R₁₀, R₁₁, R₁₂ y R₁₃ son cada uno, independientemente, H o alquilo C₁-C₆. En ciertas realizaciones, G es halógeno, O, OCH₃, OCF₃, OCH₂CH₃, OCH₂CF₃, OCH₂-CH=CH₂, O(CH₂)₂-OCH₃, O(CH₂)₂-O(CH₂)₂-N(CH₃)₂, OCH₂C(=O)-N(H)CH₃, OCH₂C(=O)-N(H)-(CH₂)₂-N(CH₃)₂ o OCH₂-N(H)-C(=NH)NH₂. En ciertas realizaciones, G es F, OCH₃ o O(CH₂)₂-OCH₃. En ciertas realizaciones, G es O(CH₂)₂-OCH₃.

En ciertas realizaciones, el nucleósido 5'-terminal tiene la Fórmula IIe:



IIe

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido, incluidos los particularmente adecuados para ARNmc, comprenden uno o más tipos de fracciones de azúcar modificado y/o fracciones de azúcar de origen natural dispuestas a lo largo de un oligonucleótido o región del mismo en un patrón definido o motivo de modificación de azúcar. Tales motivos pueden incluir cualquiera de las modificaciones de azúcar tratadas en la presente y/o otras modificaciones de azúcar conocidas.

En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden o consisten en una región que tiene

modificaciones de azúcar uniformes. En ciertas de tales realizaciones, cada nucleósido de la región comprende la misma modificación de azúcar similar a ARN. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido 2'-F. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido 2'-OMe. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido 2'-MOE. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido cEt. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido de LNA. En ciertas realizaciones, la región uniforme constituye todo o esencialmente todo el oligonucleótido. En ciertas realizaciones, la región constituye el oligonucleótido completo a excepción de los nucleósidos terminales 1-4.

En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden una o más regiones de modificaciones de azúcar alternas, en donde los nucleósidos alternan entre nucleótidos que tienen una modificación de azúcar de un primer tipo y nucleótidos que tienen una modificación de azúcar de un segundo tipo. En ciertas realizaciones, los nucleósidos de ambos tipos son nucleósidos similares a ARN. En ciertas realizaciones, los nucleósidos alternos se seleccionan de: 2'-OMe, 2'-F, 2'-MOE, LNA y cEt. En ciertas realizaciones, las modificaciones alternas son 2'-F y 2'-OMe. Tales regiones pueden ser contiguas o pueden estar interrumpidas por nucleósidos modificados de manera diferente o nucleósidos conjugados.

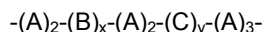
En ciertas realizaciones, la región alterna de modificaciones alternas consisten cada una en un único nucleósido (es decir, el patrón es $(AB)_x A_y$ donde A es un nucleósido que tiene una modificación de azúcar de un primer tipo y B es un nucleósido que tiene una modificación de azúcar de un segundo tipo; x es 1-20 e y es 0 o 1). En ciertas realizaciones, una o más regiones alternas en un motivo alterno incluye más de un único nucleósido de un tipo. Por ejemplo, los oligonucleótidos pueden incluir una o más regiones de cualquiera de los siguientes motivos de nucleósidos:

AABBAA;
 ABBABB;
 AABAAB;
 ABBABAABB;
 ABABAA;
 AABABAB;
 ABABAA;
 ABBAABBABABAA;
 BABBAABBABABAA; o
 ABABBAABBABABAA;

en donde A es un nucleósido de un primer tipo y B es un nucleósido de un segundo tipo. En ciertas realizaciones, A y B se seleccionan cada uno de 2'-F, 2'-OMe, BNA y MOE.

En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos que tienen tal motivo alterno también comprenden un nucleósido 5' terminal modificado, tales como los de fórmula IIc o IIe.

En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden una región que tiene un motivo 2-2-3. Tal región comprende el siguiente motivo:



en donde: A es un primer tipo de nucleósido modificado;
 B y C son nucleósidos que están modificados de manera diferente de A, sin embargo, B y C pueden tener modificaciones iguales o diferentes entre sí;
 x e y son de 1 a 15.

En ciertas realizaciones, A es un nucleósido 2'-OMe modificado. En ciertas realizaciones, B y C son ambos nucleósidos 2'-F modificados. En ciertas realizaciones, A es un nucleósido 2'-OMe modificado y B y C son ambos nucleósidos 2'-F modificados.

En ciertas realizaciones, los oligonucleósidos tienen el siguiente motivo de azúcar:



en donde:

Q es un nucleósido que comprende un fracción de fosfato estabilizado. En ciertas realizaciones, Q es un nucleósido que tiene la Fórmula IIc o IIe;
 A es un primer tipo de nucleósido modificado;
 B es un segundo tipo de nucleósido modificado;
 D es un nucleósido modificado que comprende una modificación diferente a la del nucleósido adyacente a él.

Por tanto, si y es 0, entonces D debe modificarse de manera diferente que B y si y es 1, entonces D debe modificarse de manera diferente que A. En ciertas realizaciones, D difiere de tanto A como B.

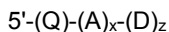
X es 5-15;

Y es 0 o 1;

Z es 0-4.

5

En ciertas realizaciones, los oligonucleósidos tienen el siguiente motivo de azúcar:



10 en donde

Q es un nucleósido que comprende un fracción de fosfato estabilizado. En ciertas realizaciones, Q es un nucleósido que tiene la Fórmula IIc o IIe;

A es un primer tipo de nucleósido modificado;

D es un nucleósido modificado que comprende una modificación diferente de A.

15

X es 11-30;

Z es 0-4.

En ciertas realizaciones, A, B, C y D en los motivos anteriores se seleccionan de: 2'-OMe, 2'-F, 2'-MOE, LNA y cEt. En ciertas realizaciones, D representa nucleósidos terminales. En ciertas realizaciones, tales nucleósidos terminales no están diseñados para hibridar con el ácido nucleico objetivo (aunque uno o más podrían hibridar por casualidad). En algunas realizaciones, la nucleobase de cada nucleósido D es adenina, independientemente de la identidad de la nucleobase en la posición correspondiente del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, la nucleobase de cada nucleósido D es timina.

20

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido, incluyendo aquellos particularmente adecuados para su uso como ARNm comprenden enlaces internucleosídicos modificados dispuestos a lo largo del oligonucleótido o región del mismo en un patrón o un motivo de enlace internucleosídico modificado definidos. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden una región que tiene un motivo de enlace internucleosídico alterno. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden una región de enlaces internucleosídicos uniformemente modificados. En ciertas de tales realizaciones, el oligonucleótido comprende una región que está ligada uniformemente por enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido está enlazado uniformemente por enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido se selecciona de fosfodiéster y fosforotioato. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido se selecciona de fosfodiéster y fosforotioato y por lo menos un enlace internucleosídico es fosforotioato

35

En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos 6 enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos 8 enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos 10 enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 6 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 8 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 10 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 12 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas de tales realizaciones, por lo menos uno de tales bloques está localizado en el extremo 3' del oligonucleótido. En ciertas de tales realizaciones, por lo menos uno de tales bloques está localizado dentro de 3 nucleósidos del extremo 3' del oligonucleótido.

45

Los oligonucleótidos que tienen cualquiera de los varios motivos de azúcar descritos en la presente, pueden tener cualquier motivo de enlace. Por ejemplo, los oligonucleótidos, incluyendo pero no limitado a los descritos anteriormente, pueden tener un motivo de enlace seleccionado de los no limitativos de la tabla siguiente:

50

Enlace más 5'	Región central	Región 3'
PS	PO/PS alterno	6 PS
PS	PO/PS alterno	7 PS
PS	PO/PS alterno	8 PS

55

60

ii. Compuestos de ARNip

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son compuestos de ARNi de cadena doble (ARNip). En tales realizaciones, una o ambas cadenas pueden comprender cualquier motivo de modificación descrito

65

anteriormente para ARNmc. En ciertas realizaciones, los compuestos de ARNmc pueden ser ARN no modificado. En ciertas realizaciones, los compuestos de ARNip pueden comprender nucleósidos de ARN no modificados, pero enlaces internucleosídicos modificados.

5 Varias realizaciones se refieren a composiciones de cadena doble en las que cada cadena comprende un motivo definido por la localización de uno o más nucleósidos modificados o no modificados. En ciertas realizaciones, se proporcionan composiciones que comprenden un primer y un segundo compuesto oligomérico que están total o por lo menos parcialmente hibridados para formar una región dúplex y que comprenden además una región que es complementaria e híbrida con un objetivo de ácido nucleico. Es adecuado que tal composición comprenda un primer compuesto oligomérico que es una cadena antisentido que tenga complementariedad total o parcial con un objetivo de ácido nucleico y un segundo compuesto oligomérico que es una cadena con sentido que tenga una o más regiones de complementariedad y forme por lo menos una región dúplex con el primer compuesto oligomérico.

15 Las composiciones de varias realizaciones modulan la expresión génica hibridando con un objetivo de ácido nucleico dando como resultado la pérdida de su función normal. En algunas realizaciones, el ácido nucleico objetivo es CFB. En ciertas realizaciones, la degradación del CFB objetivo se facilita por un complejo RISC activado que se forma con las composiciones de la invención.

20 Varias realizaciones están dirigidas a composiciones de cadena doble en las que una de las cadenas es útil para, por ejemplo, influir en la carga preferencial de la cadena opuesta en el complejo RISC (o escisión). Las composiciones son útiles para apuntar a moléculas de ácido nucleico seleccionadas y modular la expresión de uno o más genes. En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención hibridan con una parte de un ARN objetivo dando como resultado la pérdida de la función normal del ARN objetivo.

25 Ciertas realizaciones están dirigidas a composiciones de cadena doble en las que ambas cadenas comprenden un motivo hemímero, un motivo completamente modificado, un motivo modificado posicionalmente o un motivo alterno. Cada cadena de las composiciones de la presente invención puede modificarse para cumplir una función particular en, por ejemplo, la vía del ARNip. Usando un motivo diferente en cada cadena o el mismo motivo con diferentes modificaciones químicas en cada cadena permite dirigir la cadena antisentido para el complejo RISC mientras se inhibe la incorporación de la cadena con sentido. Dentro de este modelo, cada cadena puede modificarse independientemente de tal manera que se mejora para su función particular. La cadena antisentido puede modificarse en el extremo 5' para mejorar su función en una región del RISC mientras que el extremo 3' puede modificarse diferencialmente para mejorar su función en una región diferente del RISC.

35 Las moléculas de oligonucleótidos de cadena doble pueden ser una molécula de polinucleótidos de cadena doble que comprende regiones con sentido y antisentido auto-complementarias, en donde la región antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos en una molécula de ácido nucleico objetivo o una parte de la misma y la región con sentido tiene una secuencia de nucleótidos correspondiente a la secuencia de ácido nucleico objetivo o una parte de la misma. Las moléculas de oligonucleótidos de cadena doble pueden ensamblarse a partir de dos oligonucleótidos separados, donde una cadena es la cadena con sentido y la otra es la cadena antisentido, en donde las cadenas antisentido y con sentido son auto-complementarias (es decir, cada cadena comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria de la secuencia de nucleótidos en la otra cadena; tal como donde la cadena antisentido y la cadena con sentido forman una estructura dúplex o de cadena doble, por ejemplo, en donde la región de cadena doble es de aproximadamente 15 a aproximadamente 30, por ejemplo, aproximadamente 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 pares de bases; la cadena antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos en una molécula de ácido nucleico objetivo o una parte de la misma y la cadena con sentido comprende una secuencia de nucleótidos correspondiente a la secuencia de ácido nucleico objetivo o una parte de la misma (por ejemplo, de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 o más nucleótidos de la molécula de oligonucleótido de cadena doble son complementarios al ácido nucleico objetivo o una parte del mismo). Alternativamente, el oligonucleótido de cadena doble se ensambla a partir de un único oligonucleótido, donde las regiones con sentido y antisentido auto-complementarias del ARNip se enlazan por medio de un conector(es) a base de ácido nucleico o no a base de ácido nucleico.

55 El oligonucleótido de cadena doble puede ser un polinucleótido con una estructura secundaria dúplex, dúplex asimétrico, de horquilla o de horquilla asimétrica, que tiene regiones con sentido y antisentido auto-complementarias, en donde la región antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos en una molécula de ácido nucleico objetivo separada o una parte de la misma y la región con sentido tiene una secuencia de nucleótidos correspondiente a la secuencia de ácido nucleico objetivo o una parte de la misma. El oligonucleótido de cadena doble puede ser un polinucleótido de cadena sencilla circular que tiene dos o más estructuras de giro y un vástago que comprende regiones con sentido y antisentido auto-complementarias, en donde la región antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos correspondiente a la secuencia de ácidos nucleicos o una parte de la misma, y en donde el polinucleótido circular puede procesarse o in vivo o in vitro para generar una molécula de ARNip activa capaz de mediar ARNi.

65

En ciertas realizaciones, el oligonucleótido de cadena doble comprende secuencias o regiones con sentido y antisentido separadas, en donde las regiones con sentido y antisentido están enlazadas covalentemente por moléculas de conectores nucleotídicos o no nucleotídicos como se conoce en la técnica, o están alternativamente enlazadas no covalentemente por interacciones iónicas, enlaces de hidrógeno, interacciones de van der Waals, interacciones hidrófobas, y/o interacciones de apilamiento. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido de cadena doble comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos de un gen objetivo. En otra realización, el oligonucleótido de cadena doble interactúa con la secuencia de nucleótidos de un gen objetivo de una manera que provoca la inhibición de la expresión del gen objetivo.

Como se usa en la presente, los oligonucleótidos de cadena doble no necesitan estar limitados a aquellas moléculas que contienen solo ARN, sino que también incluyen nucleótidos modificados químicamente y no nucleótidos. En ciertas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico interferente corto carecen de nucleótidos que contienen 2'-hidroxilo (2'-OH). En ciertas realizaciones, los ácidos nucleicos interferente cortos opcionalmente no incluyen ningún ribonucleótido (por ejemplo, nucleótidos que tienen un grupo 2'-OH). Sin embargo, tales oligonucleótidos de cadena doble que no requieren la presencia de ribonucleótidos dentro de la molécula para soportar ARNi pueden tener un conector o conectores unidos u otros grupos, fracciones o cadenas unidas o asociadas, que contienen uno o más nucleótidos con grupos 2'-OH. Opcionalmente, los oligonucleótidos de cadena doble pueden comprender ribonucleótidos en aproximadamente el 5, 10, 20, 30, 40, o el 50% de las posiciones de nucleótidos. Como se usa en la presente, se entiende que el término ARNi es equivalente a otros términos usados para describir moléculas de ácido nucleico que son capaces de mediar ARNi específicos de secuencia, por ejemplo, ARN interferente corto (ARNip), ARN de cadena doble (ARNbc), micro-ARN (miARN), RNA de horquilla corta (ARNhc), oligonucleótido interferente corto, ácido nucleico interferente corto, oligonucleótido modificado interferente corto, ARNi modificado químicamente, ARN silenciador de genes post-transcripcional (ARNsgpt), y otros. Además, como se usa en la presente, se entiende que el término ARNi es equivalente a otros términos usados para describir ARN interferente específico de secuencia, como silenciamiento génico postranscripcional, inhibición translacional o epigenética. Por ejemplo, los oligonucleótidos de cadena doble pueden usarse para silenciar epigenéticamente genes tanto en el nivel post-transcripcional como en el nivel pre-transcripcional. En un ejemplo no limitativo, la regulación epigenética de la expresión génica por las moléculas de ARNi puede ser resultado de la modificación mediada por ARNi de la estructura de la cromatina o del patrón de metilación para alterar la expresión génica (ver, por ejemplo, Verdell et al., 2004, *Science*, 303, 672-676; Pal-Bhadra et al., 2004, *Science*, 303, 669-672; Allshire, 2002, *Science*, 297, 1818-1819; Volpe et al., 2002, *Science*, 297, 1833-1837; Jenuwein, 2002, *Science*, 297, 2215-2218; y Hall et al., 2002, *Science*, 297, 2232-2237).

Se contempla que los compuestos y composiciones de varias realizaciones proporcionadas en la presente puedan dirigirse a CFB mediante un silenciamiento génico mediado por ARNbc o un mecanismo de ARNi, incluyendo, por ejemplo, moléculas de efector de ARN de cadena doble de tipo "horquilla" o vástago-giro en las que una cadena de ARN individual con las secuencias auto-complementarias es capaz de asumir una conformación de cadena doble, o moléculas de efector de ARNbc dúplex que comprenden dos cadenas separadas de ARN. En diversas realizaciones, el ARNbc consiste completamente en ribonucleótidos o consiste de una mezcla de ribonucleótidos y desoxinucleótidos, como los híbridos de ARN/ADN divulgados, por ejemplo, por la WO 00/63364, presentada el 19 de abril de 2000 o la US N° de Serie 60/130,377, presentada el 21 de abril de 1999. EL ARNbc o la molécula efectora de ARNbc puede ser una molécula individual con una región de auto-complementariedad tal que los nucleótidos en un segmento de la base de la molécula se emparejen con nucleótidos en otro segmento de la molécula. En varias realizaciones, un ARNbc que consiste de una molécula individual consiste completamente de ribonucleótidos o incluye una región de ribonucleótidos que es complementaria a una región de desoxirribonucleótidos. Alternativamente, el ARNbc puede incluir dos cadenas diferentes que tienen una región de complementariedad entre sí.

En varias realizaciones, ambas cadenas consisten completamente de ribonucleótidos, una cadena consiste completamente en ribonucleótidos y una cadena consiste completamente en desoxirribonucleótidos, o una o ambas cadenas contienen una mezcla de ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos. En ciertas realizaciones, las regiones de complementariedad son por lo menos un 70, 80, 90, 95, 98 o 100% complementarias entre sí y con una secuencia de ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, la región del ARNbc que está presente en una conformación de cadena doble incluye por lo menos 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 50, 75, 100, 200, 500, 1000, 2000 o 5000 nucleótidos o incluye todos los nucleótidos en un ADNc u otra secuencia de ácido nucleico objetivo que está representada en el ARNbc. En algunas realizaciones, el ARNbc no contiene ninguna región de cadena sencilla, como extremos de cadena sencilla, o el ARNbc es una horquilla. En otras realizaciones, el ARNbc tiene una o más regiones de cadena sencilla o voladizos. En ciertas realizaciones, los híbridos de ARN/ADN incluyen una cadena o región de ADN que es una cadena o región antisentido (por ejemplo, tiene por lo menos un 70, 80, 90, 95, 98 o 100% de complementariedad con un ácido nucleico objetivo) y una cadena o región de ARN que es una cadena o región con sentido (por ejemplo, tiene por lo menos un 70, 80, 90, 95, 98 o 100% de identidad con un ácido nucleico objetivo) y viceversa.

En varias realizaciones, el híbrido de ARN/ADN se realiza in vitro usando métodos sintéticos enzimáticos o

químicos como los descritos en la presente o los descritos en la WO 00/63364, presentada el 19 de abril de 2000 o la US N° de Serie 60/130,377, presentada el 21 de abril de 1999. En otras realizaciones, una cadena de ADN sintetizada in vitro se compleja con una cadena de ARN elaborada in vivo o in vitro antes, después, o concurrentemente con la transformación de la cadena de ADN en la célula. En otras realizaciones más, el ARNbc es un ácido nucleico circular individual que contiene una región con sentido y una antisentido, o el ARNbc incluye un ácido nucleico circular y o un segundo ácido nucleico circular o un ácido nucleico lineal (ver, por ejemplo, la WO 00/63364, presentada el 19 de abril de 2000 o la US N° de Serie 60/130,377, presentada el 21 de abril de 1999). Los ácidos nucleicos circulares ejemplares incluyen estructuras de lazo en las que el grupo fosforilo 5' libre de un nucleótido se enlaza con el grupo hidroxilo 2' de otro nucleótido en una forma de giro posterior.

En otras realizaciones, el ARNbc incluye uno o más nucleótidos modificados en los que la posición 2' en el azúcar contiene un halógeno (como el grupo flúor) o contiene un grupo alcoxi (como un grupo metoxi) que aumenta la vida media del ARNbc in vitro o in vivo en comparación con el ARNbc correspondiente en el que la posición 2' correspondiente contiene un hidrógeno o un grupo hidroxilo. En otras realizaciones más, el ARNbc incluye uno o más enlaces entre nucleótidos adyacentes distintos de un enlace fosfodiéster de origen natural. Los ejemplos de tales enlaces incluyen enlaces de fosforamida, fosforotioato y fosforoditioato. Los ARNbc también pueden ser moléculas de ácido nucleico modificadas químicamente como se enseña en la Patente de Estados Unidos N° 6.673.661. En otras realizaciones, el ARNbc contiene una o dos cadenas con caperuza, como se divulga, por ejemplo, por la WO 00/63364, presentada el 19 de abril de 2000 o la US N° de Serie 60/130.377, presentada el 21 de abril de 1999.

En otras realizaciones, el ARNbc puede ser cualquiera de las moléculas ARNbc divulgadas por lo menos parcialmente en la WO 00/63364, así como cualquier otra de las moléculas de ARNbc descritas en la Solicitud Provisional de Estados Unidos 60/399.998; y la Solicitud Provisional de Estados Unidos 60/419.532 y el PCT/US2003/033466. Cualquiera de los ARNbc puede expresarse in vitro o in vivo usando los métodos descritos en la presente o métodos estándar, como los descritos en la WO 00/63364.

Ocupación

En ciertas realizaciones, no se espera que los compuestos antisentido den como resultado la escisión o el ácido nucleico objetivo a través de la RNasa H o que den como resultado la escisión o el secuestro a través de la vía de RISC. En ciertas de tales realizaciones, la actividad antisentido puede ser resultado de la ocupación, en donde la presencia del compuesto antisentido hibridado interrumpe la actividad del ácido nucleico objetivo. En ciertas de tales realizaciones, el compuesto antisentido puede modificarse uniformemente o puede comprender una mezcla de modificaciones y/o nucleósidos modificados y no modificados.

Ácidos nucleicos objetivo, regiones objetivo y secuencias de nucleótidos

Las secuencias de nucleótidos que codifican el Factor B del Complemento (CFB) incluyen, sin limitación, las siguientes: N° de Acceso de GENBANK NM_001710.5 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 1), N° de Acceso de GENBANK NT_007592.15 truncada de los nucleótidos 31852000 a 31861000 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 2), N° de Acceso de GENBANK NW_001116486.1 truncada de los nucleótidos 536000 a 545000 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 3), N° de Acceso de GENBANK XM_001113553.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 4), o N° de Acceso de GENBANK NM_008198.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 5).

Hibridación

En algunas realizaciones, la hibridación tiene lugar entre un compuesto antisentido divulgado en la presente y un ácido nucleico de CFB. El mecanismo más común de hibridación implica enlaces de hidrógeno (por ejemplo, enlaces de hidrógeno de Watson-Crick, Hoogsteen o de Hoogsteen invertidos) entre nucleobases complementarias de las moléculas de ácido nucleico.

La hibridación puede tener lugar bajo condiciones variables. Las condiciones rigurosas dependen de la secuencia y están determinadas por la naturaleza y composición de las moléculas del ácido nucleico a hibridar.

Los métodos para determinar si una secuencia puede hibridar específicamente con un ácido nucleico objetivo son bien conocidos en la técnica. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido proporcionados en la presente pueden hibridar específicamente con un ácido nucleico de CFB.

Complementariedad

Un compuesto antisentido y un ácido nucleico objetivo son complementarios entre sí cuando un número suficiente de nucleobases del compuesto antisentido pueden unirse mediante enlaces de hidrógeno con las nucleobases correspondientes del ácido nucleico objetivo, de tal manera que se produzca un efecto deseado (por

ejemplo, inhibición antisentido de un ácido nucleico objetivo, como un ácido nucleico de CFB).

Pueden tolerarse nucleobases no complementarias entre un compuesto antisentido y un ácido nucleico de CFB siempre que el compuesto antisentido siga siendo capaz de hibridar específicamente con un ácido nucleico objetivo. Además, un compuesto antisentido puede hibridar sobre uno o más segmentos de un ácido nucleico de CFB, de tal manera que los segmentos intermedios o adyacentes no estén implicados en el evento de hibridación (por ejemplo, una estructura de giro, un malapareamiento o una estructura de horquilla).

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido proporcionados en la presente, o una parte específica de los mismos, son, o son por lo menos, un 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% complementarios con un ácido nucleico de CFB, una región objetivo, un segmento objetivo, o una parte específica de los mismos. El porcentaje de complementariedad de un compuesto antisentido con un ácido nucleico objetivo puede determinarse usando métodos rutinarios.

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

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido proporcionados en la presente, o partes específicas de los mismos, son completamente complementarios (es decir, 100% complementarios) con un ácido nucleico objetivo, o parte específica del mismo. Por ejemplo, un compuesto antisentido puede ser completamente complementario con un ácido nucleico de CFB, o una región objetivo, o un segmento objetivo o una secuencia objetivo del mismo. Como se usa en la presente, "totalmente complementario" significa que cada nucleobase de un compuesto antisentido es capaz de un emparejamiento de bases preciso de bases con las nucleobases correspondientes de un ácido nucleico objetivo. Por ejemplo, un compuesto antisentido de 20 nucleobases es completamente complementario con una secuencia objetivo que tiene una longitud de 400 nucleobases, siempre que haya una parte de 20 nucleobases correspondiente del ácido nucleico objetivo que sea completamente complementaria con el compuesto antisentido. Completamente complementario también puede usarse en referencia a una parte específica del primer y/o el segundo ácido nucleico. Por ejemplo, una parte de 20 nucleobases de un compuesto antisentido de 30 nucleobases puede ser "completamente complementaria" con una secuencia objetivo que tenga una longitud de 400 nucleobases. La parte de 20 nucleobases del oligonucleótido de 30 nucleobases es completamente complementaria con la secuencia objetivo si la secuencia objetivo tiene una parte correspondiente de 20 nucleobases en la que cada nucleobase es complementaria a la parte de 20 nucleobases del compuesto antisentido. Al mismo tiempo, el compuesto antisentido de 30 nucleobases completo puede ser o no completamente complementario con la secuencia objetivo, dependiendo de si las 10 nucleobases restantes del compuesto antisentido también son complementarias con la secuencia objetivo.

La localización de una nucleobase no complementaria puede estar en el extremo 5' o el extremo 3' del compuesto antisentido. Alternativamente, la nucleobase o nucleobases no complementarias pueden estar en una posición interna del compuesto antisentido. Cuando están presentes dos o más nucleobases no complementarias, pueden ser contiguas (es decir, enlazadas) o no contiguas. En una realización, una nucleobase no complementaria está localizada en el segmento de ala de un oligonucleótido antisentido gapmer.

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido que tienen, o tienen hasta 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 nucleobases de longitud comprenden no más de 4, no más de 3, no más de 2, o no más de 1 nucleobases no complementarias con respecto a un ácido nucleico objetivo, como un ácido nucleico de CFB, o una parte específica del mismo.

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido que tienen, o tienen hasta 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30 nucleobases de longitud comprenden no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2, o no más de 1 nucleobases no complementarias con respecto a un ácido nucleico objetivo, como un ácido nucleico de CFB, o una parte específica del mismo.

Los compuestos antisentido de la presente también incluyen aquellos que son complementarios a una parte

de un ácido nucleico objetivo. Como se usa en el presente documento, "parte" se refiere a un número definido de nucleobases contiguas (es decir, enlazadas) dentro de una región o segmento de un ácido nucleico objetivo. Una "parte" también puede referirse a un número definido de nucleobases contiguas de un compuesto antisentido. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de por lo menos una parte de 8 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de por lo menos una parte de 9 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de por lo menos una parte de 10 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de por lo menos una parte de 11 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de por lo menos una parte de 12 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de por lo menos una parte de 13 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de por lo menos una parte de 14 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de por lo menos una parte de 15 nucleobases de un segmento objetivo. También se contemplan compuestos antisentido que son complementarios de por lo menos una parte de 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más nucleobases de un segmento objetivo, o un intervalo definido por dos cualquiera de estos valores.

Identidad

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

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido, o partes de los mismos, son, o son por lo menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idénticos a uno o más de los compuestos antisentido o las SEQ ID NO, o una parte de los mismos, divulgados en la presente.

En ciertas realizaciones, una parte del compuesto antisentido se compara con una parte de igual longitud del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, una parte de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleobases se compara con una parte de igual longitud del ácido nucleico objetivo.

En ciertas realizaciones, una parte del oligonucleótido antisentido se compara con una parte de igual longitud del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, una parte de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleobases se compara con una parte de igual longitud del ácido nucleico objetivo.

Modificaciones

Un nucleósido es una combinación de base-azúcar. La parte de nucleobase (también conocida como base) del nucleósido es normalmente un fracción de base heterocíclica. Los nucleótidos son nucleósidos que incluyen además un grupo fosfato enlazado covalentemente a la parte de azúcar del nucleósido. Para aquellos nucleósidos que incluyen un azúcar de pentofuranosilo, el grupo fosfato puede enlazarse a la fracción hidroxilo 2', 3' o 5' del azúcar. Los oligonucleótidos se forman a través del enlace covalente de nucleósidos adyacentes entre sí, para formar un oligonucleótido polimérico lineal. Dentro de la estructura del oligonucleótido, se hace referencia comúnmente a los grupos fosfato como formadores de los enlaces internucleosídicos del oligonucleótido.

Las modificaciones en los compuestos antisentido abarcan sustituciones o cambios en los enlaces internucleosídicos, fracciones de azúcar, o nucleobases. Los compuestos antisentido modificados se prefieren a menudo sobre las formas nativas debido a las propiedades deseables como, por ejemplo, captación celular mejorada, afinidad aumentada para el objetivo del ácido nucleico, estabilidad aumentada en presencia de nucleasas, o actividad inhibitoria aumentada.

También pueden emplearse nucleósidos modificados químicamente para aumentar la afinidad de unión de un oligonucleótido antisentido acortado o truncado para su ácido nucleico objetivo. Consecuentemente, a menudo se pueden obtener resultados comparables con compuestos antisentido más cortos que tienen tales nucleósidos modificados químicamente.

Enlaces internucleosídicos modificados

5 El enlace internucleosídico de origen natural del ARN y el ADN es un enlace fosfodiéster de 3' a 5'. Los compuestos antisentido que tienen uno o más enlaces internucleosídicos modificados, es decir, no de origen natural, se seleccionan a menudo sobre los compuestos antisentido que tienen enlaces internucleosídicos de origen natural, debido a propiedades deseables como, por ejemplo, captación celular mejorada, afinidad mejorada por los ácidos nucleicos objetivo y estabilidad aumentada en presencia de nucleasas.

10 Los oligonucleótidos que tienen enlaces internucleosídicos modificados incluyen enlaces internucleosídicos que retienen un átomo de fósforo, así como enlaces internucleosídicos que no tienen un átomo de fósforo. Los enlaces internucleosídicos que contienen fósforo representativos incluyen, pero no están limitados a, fosfodiésteres, fosfotriésteres, metilfosfonatos, fosforamido y fosforotioatos. Los métodos de preparación de enlaces que contienen fósforo y que no contienen fósforo son bien conocidos.

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

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

30 En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden una región que tiene un motivo de enlace internucleosídico alterno. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos de la presente invención comprenden una región de enlaces internucleosídicos modificados uniformemente. En ciertas de tales realizaciones, el oligonucleótido comprende una región que está enlazada uniformemente por enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido está enlazado uniformemente por fosforotioato. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido se selecciona de fosfodiéster y fosforotioato. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido se selecciona de fosfodiéster y fosforotioato y por lo menos un enlace internucleosídico es fosforotioato.

40 En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos 6 enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos 8 enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos 10 enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 6 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 8 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 10 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 12 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas de tales realizaciones, por lo menos uno de tales bloques está localizado en el extremo 3' del oligonucleótido. En ciertas de tales realizaciones, por lo menos uno de tales bloques está localizado dentro de 3 nucleósidos del extremo 3' del oligonucleótido.

50 En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden uno o más enlaces de metilfosfonato. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos que tienen un motivo de nucleósido gapmer comprenden un motivo de enlace que comprende todos los enlaces de fosforotioato excepto por uno o dos enlaces de metilfosfonato. En ciertas realizaciones, un enlace de metilfosfonato está en el hueco central de un oligonucleótido que tiene un motivo de nucleósido gapmer.

55 En ciertas realizaciones, es deseable disponer el número de enlaces internucleosídicos de fosforotioato y enlaces internucleosídicos de fosfodiéster para mantener la resistencia a la nucleasa. En ciertas realizaciones, es deseable disponer el número y la posición de los enlaces internucleosídicos de fosforotioato y el número y la posición de los enlaces internucleosídicos de fosfodiéster para mantener la resistencia a la nucleasa. En ciertas realizaciones, el número de enlaces internucleosídicos de fosforotioato puede disminuirse y el número de enlaces internucleosídicos de fosfodiéster puede aumentarse. En ciertas realizaciones, el número de enlaces internucleosídicos de fosforotioato puede disminuirse y el número de enlaces internucleosídicos de fosfodiéster puede aumentarse mientras se mantiene la resistencia a la nucleasa. En ciertas realizaciones, es deseable disminuir el número de enlaces internucleosídicos de fosforotioato mientras se mantiene la resistencia a la nucleasa. En ciertas realizaciones, es deseable aumentar el número de enlaces internucleosídicos de fosfodiéster mientras se

mantiene la resistencia a la nucleasa.

Fracciones de azúcar modificado

5 Los compuestos antisentido pueden contener opcionalmente uno o más nucleósidos en los que el grupo
 azúcar se ha modificado. Tales nucleósidos modificados con azúcar pueden impartir una estabilidad de nucleasas
 mejorada, una afinidad de unión aumentada o alguna otra propiedad biológica beneficiosa a los compuestos
 antisentido. En ciertas realizaciones, los nucleósidos comprenden fracciones de anillos de ribofuranosa
 10 químicamente modificados. Los ejemplos de anillos de ribofuranosa químicamente modificados incluyen, sin
 limitación, la adición de grupos sustituyentes (incluyendo grupos sustituyentes 5' y 2', puente de los átomos del anillo
 no germinales para formar ácidos nucleicos bicíclicos (BNA), el reemplazo del átomo de oxígeno del anillo ribosilo
 con S, N(R) o C(R₁)(R₂)(R, R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₁₂ o un grupo protector) y
 combinaciones de los mismos. Los ejemplos de azúcares químicamente modificados incluyen el nucleósido
 15 sustituido con 2'-F-5'-metilo (ver Solicitud Internacional de PCT WO 2008/101157 publicada el 21/8/08 para otros
 nucleósidos 5'-2'-bis sustituidos divulgados) o el reemplazo del átomo de oxígeno del anillo ribosilo con S con una
 sustitución adicional en la posición 2' (ver Solicitud de Patente de Estados Unidos Publicada US2005-0130923,
 publicada el 16 de junio de 2005) o alternativamente, la sustitución 5' de un BNA (ver Solicitud Internacional de PCT
 WO 2007/134181 Publicada el 22/11/07 en donde LNA está sustituido con, por ejemplo, un grupo 5'-metilo o un
 grupo 5'-vinilo).

20 Ejemplos de nucleósidos que tienen fracciones de azúcares modificados incluyen, sin limitación,
 nucleósidos que comprenden grupos sustituyentes 5'-vinilo, 5'-metilo (R o S), '-S, 2'-F, 2'-OCH₃, 2'-OCH₂CH₃, 2'-
 OCH₂CH₂F y 2'-O(CH₂)₂OCH₃. El sustituyente en la posición 2' también puede seleccionarse de alilo, amino, azido,
 tio, O-alilo, O- alquilo C₁-C₁₀, OCF₃, OCH₂F, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n), y O-CH₂-
 25 C(=O)-N(R₁)-(CH₂)₂-N(R_m)(R_n), donde cada R₁, R_m y R_n es, independientemente, H o alquilo C₁-C₁₀ sustituido o no
 sustituido.

Como se usa en la presente, "nucleósidos bicíclicos" se refiere a nucleósidos modificados que comprenden
 un fracción de azúcar bicíclico. Los ejemplos de nucleósidos bicíclicos incluyen, sin limitación, nucleósidos que
 30 comprenden un puente entre los átomos del anillo ribosilo 4' y 2'. En ciertas realizaciones, los compuestos
 antisentido proporcionados en la presente incluyen uno o más nucleósidos bicíclicos que comprenden un puente de
 4' a 2'. Ejemplos de tales nucleósidos bicíclicos con puente 4' a 2', incluyen pero no están limitados a una de las
 fórmulas: 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' (también referido como etilo
 restringido o cEt) y 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (y análogos de la misma, ver la Patente de Estados Unidos 7.399.845,
 35 concedida el 15 de julio del 2008); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (y análogos de la misma ver la Solicitud Internacional
 publicada WO/2009/006478, publicada el 8 de enero de 2009); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (y análogos de la misma, ver la
 Solicitud Internacional publicada WO/2008/150729, publicada el 11 de diciembre de 2008); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (ver
 la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada US2004-0171570, publicada el 2 de septiembre de 2004); 4'-
 40 CH₂-N(R)-O-2', en donde R es H, alquilo C₁-C₁₂, o un grupo protector (ver Patente de Estados Unidos 7.427.672,
 concedida el 23 de septiembre de 2008); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (ver Zhou et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134); y
 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (y análogos de la misma, ver la Solicitud Internacional publicada WO 2008/154401, publicada el 8
 de diciembre de 2008).

También pueden encontrarse informes adicionales relacionados con los nucleósidos bicíclicos en la
 45 bibliografía publicada (ver, por ejemplo, Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al., Tetrahedron,
 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 5633-5638; Kumar et al., Bioorg.
 Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; Srivastava et al., J. Am.
 Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379; Elayadi et al., Curr. Opinion Invest. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al.,
 Chem. Biol., 2001, 8, 1-7; y Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243; Patentes de Estados Unidos N°
 50 6.268.490; 6.525.191; 6.670.461; 6.770.748; 6.794.499; 7.034.133; 7.053.207; 7.399.845; 7.547.684; 8.530.640; y
 7.696.345; Publicaciones de Patente de Estados Unidos N° US2008-0039618; US2009-0012281; Patentes de
 Estados Unidos N° de Serie 61/026.995 y 61/097.787; Solicitudes Internacionales de PCT Publicadas WO
 2009/067647; WO 2011/017521; WO 2010/036698 WO 1999/014226; WO 2004/106356; WO 2005/021570; WO
 2007/134181; WO 2008/150729; WO 2008/154401; y WO 2009/006478. Cada uno de los nucleósidos bicíclicos
 55 anteriores puede prepararse con una o más configuraciones de azúcares estereoquímicos incluyendo, por ejemplo,
 α-L-ribofuranosa y β-D-ribofuranosa (ver la Solicitud Internacional de PCT PCT/DK98/00393, publicada el 25 de
 marzo de 1999 como WO 99/14226).

En ciertas realizaciones, las fracciones de azúcares bicíclicos de los nucleósidos de BNA incluyen, pero no
 60 están limitados a, compuestos que tienen por lo menos un puente entre las posiciones 4' y 2' de la fracción de
 azúcar de pentofuranosilo en donde tales puentes comprenden independientemente 1 o de 2 a 4 grupos enlazados
 seleccionados independientemente de $-\text{C}(\text{R}_a)(\text{R}_b)]_n-$, $-\text{C}(\text{R}_a)=\text{C}(\text{R}_b)-$, $-\text{C}(\text{R}_a)=\text{N}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{NR}_a)-$, $-\text{C}(=\text{S})-$, $-\text{O}-$, $-\text{Si}(\text{R}_a)_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_x-$, y $-\text{N}(\text{R}_a)-$;
 en donde:

65

x es 0, 1 o 2;

n es 1, 2, 3 o 4;

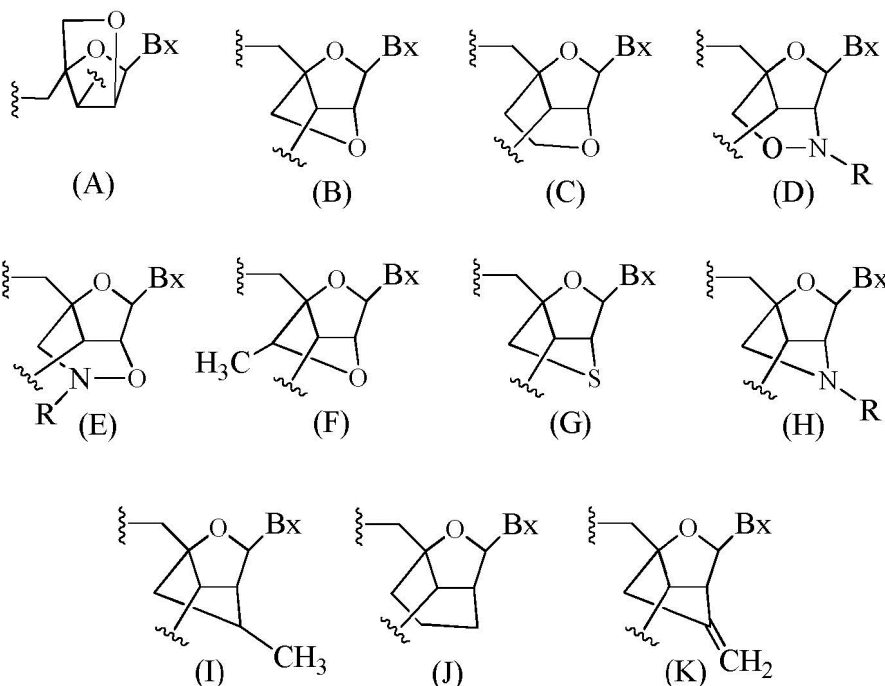
cada R_a y R_b es, independientemente, H, un grupo protector, hidroxilo, alquilo C_1-C_{12} , alquilo C_1-C_{12} sustituido, alqueno C_2-C_{12} , alqueno C_2-C_{12} sustituido, alquino C_2-C_{12} , alquino C_2-C_{12} sustituido, arilo C_5-C_{20} , arilo C_5-C_{20} sustituido, radical heterociclo, radical heterociclo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical alicíclico C_5-C_7 , radical alicíclico C_5-C_7 sustituido, halógeno, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $COOJ_1$, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, CN, sulfonilo (S(=O)₂-J₁), o sulfoxilo (S(=O)-J₁); y

cada J_1 y J_2 es, independientemente, H, alquilo C_1-C_{12} , alquilo C_1-C_{12} sustituido, alqueno C_2-C_{12} , alqueno C_2-C_{12} sustituido, alquino C_2-C_{12} , alquino C_2-C_{12} sustituido, arilo C_5-C_{20} , arilo C_5-C_{20} sustituido, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, aminoalquilo C_1-C_{12} , aminoalquilo C_1-C_{12} sustituido o un grupo protector.

En ciertas realizaciones, el puente de un fracción de azúcar bicíclico es $-[C(R_a)(R_b)]_n-$, $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$, $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ o $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$. En ciertas realizaciones, el puente es $4' \text{---} CH_2\text{---} 2'$, $4' \text{---} (CH_2)_2\text{---} 2'$, $4' \text{---} (CH_2)_3\text{---} 2'$, $4' \text{---} CH_2\text{---} O\text{---} 2'$, $4' \text{---} CH_2\text{---} O\text{---} N(R)\text{---} 2'$ y $4' \text{---} CH_2\text{---} N(R)\text{---} O\text{---} 2'$ en donde cada R es, independientemente, H, un grupo protector o alquilo C_1-C_{12} .

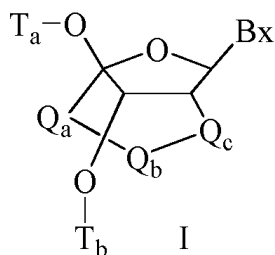
En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos se definen adicionalmente por la configuración isomérica. Por ejemplo, un nucleósido que comprende un puente $4' \text{---} 2'$ metileno-oxi, puede estar en la configuración α -L o en la configuración β -D. Anteriormente, se han incorporado α -L-metileno-oxi ($4' \text{---} CH_2\text{---} O\text{---} 2'$) BNA en oligonucleótidos antisentido que mostraban actividad antisentido (Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372).

En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos incluyen, pero no están limitados a, (A) α -L-metileno-oxi ($4' \text{---} CH_2\text{---} O\text{---} 2'$) BNA, (B) β -D-metileno-oxi ($4' \text{---} CH_2\text{---} O\text{---} 2'$) BNA, (C) etileno-oxi ($4' \text{---} (CH_2)_2\text{---} O\text{---} 2'$) BNA, (D) amino-oxi ($4' \text{---} CH_2\text{---} O\text{---} N(R)\text{---} 2'$) BNA, (E) oxiamino ($4' \text{---} CH_2\text{---} N(R)\text{---} O\text{---} 2'$) BNA, y (F) metil(metileno-oxi) ($4' \text{---} CH(CH_3)\text{---} O\text{---} 2'$) BNA, (G) metileno-tio ($4' \text{---} CH_2\text{---} S\text{---} 2'$) BNA, (H) metileno-amino ($4' \text{---} CH_2\text{---} N(R)\text{---} 2'$) BNA, (I) metil carbocíclico ($4' \text{---} CH_2\text{---} CH(CH_3)\text{---} 2'$) BNA, (J) propileno carbocíclico ($4' \text{---} (CH_2)_3\text{---} 2'$) BNA y (K) vinilo BNA como se representa a continuación:



en donde Bx es la fracción de base y R es independientemente H, un grupo protector, alquilo C_1-C_{12} o alcoxi C_1-C_{12} .

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula I:



en donde:

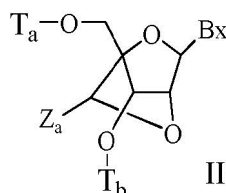
Bx es una fracción de base heterocíclica;

$-Q_a-Q_b-Q_c-$ es $-CH_2-N(R_c)-CH_2-$, $-C(=O)-N(R_c)-CH_2-$, $-CH_2-O-N(R_c)-$, $-CH_2-N(R_c)-O-$ o $-N(R_c)-O-CH_2-$;

R_c es alquilo C_1-C_{12} o un grupo protector de amino; y

T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, aun fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte.

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula II:



en donde:

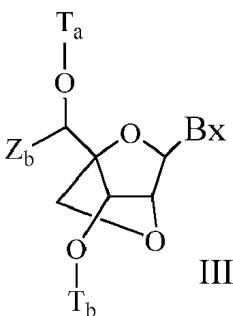
Bx es un fracción base heterocíclica;

T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

Z_a es alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , alquilo C_1-C_6 sustituido, alqueno C_2-C_6 sustituido, alquino C_2-C_6 sustituido, acilo, acilo sustituido, amida sustituida, tío o tío sustituido.

En una realización, cada uno de los grupos sustituidos está, independientemente, mono o poli sustituido con grupos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, oxo, hidroxilo, OJ_c , NJ_cJ_d , SJ_c , N_3 , $OC(=X)J_c$, y $NJ_eC(=X)NJ_cJ_d$, en donde cada J_c , J_d y J_e es, independientemente, H, alquilo C_1-C_6 , o alquilo C_1-C_6 sustituido y X es O o NJ_c .

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula III:



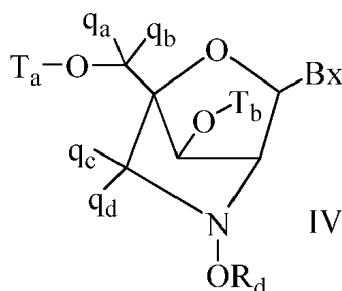
en donde:

Bx es un fracción de base heterocíclica;

T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

Z_b es alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , alquilo C_1-C_6 sustituido, alqueno C_2-C_6 sustituido, alquino C_2-C_6 sustituido o acilo sustituido ($C(=O)-$).

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula IV:



en donde:

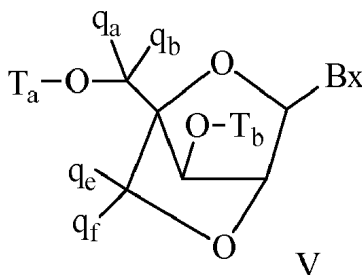
Bx es un fracción de base heterocíclica;

T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

R_d es alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

cada q_a, q_b, q_c y q_d es, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, acilo, acilo sustituido, aminoalquilo C₁-C₆ o aminoalquilo C₁-C₆ sustituido;

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula V:



en donde:

Bx es un fracción de base heterocíclica;

T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

q_a, q_b, q_e y q_f son cada uno, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alqueno C₂-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂ sustituido, alquino C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂ sustituido, alcoxi C₁-C₁₂, alcoxi C₁-C₁₂ sustituido, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO₂J_j, NJ_jJ_k, N₃, CN, C(=O)OJ_j, C(=O)NJ_jJ_k, C(=O)J_j, O-C(=O)NJ_jJ_k, N(H)C(=NH)NJ_jJ_k, N(H)C(=O)NJ_jJ_k o N(H)C(=S)NJ_jJ_k;

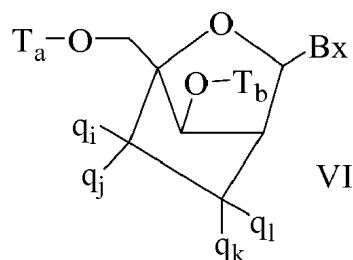
o q_e y q_f juntos son =C(q_g)(q_h);

q_g y q_h son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₁₂ o alquilo C₁-C₁₂ sustituido.

Se han descrito la síntesis y preparación de los monómeros de metileno (4'-CH₂-O-2') BNA adenina, citosina, guanina, 5-metil-citosina, timina y uracilo, junto con su oligomerización y propiedades de reconocimiento de ácidos nucleicos. (Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630). Los BNA y su preparación también se describen en la WO 98/39352 y la WO 99/14226.

También se han preparado análogos de metileno (4'-CH₂-O-2') BNA y 2'-tio-BNA (Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222). También se ha descrito la preparación de análogos de nucleósidos bloqueados que comprenden dúplex de oligodesoxirribonucleótidos como sustratos para polimerasas de ácidos nucleicos (Wengel et al., WO 99/14226). Además, la síntesis de 2'-amino-BNA, un nuevo análogo de oligonucleótido de alta afinidad conformacionalmente restringido, se ha descrito en la técnica (Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039). Además, se han preparado 2'-amino- y 2'-metilamino-BNA y se ha informado anteriormente de la estabilidad térmica de sus dúplex con cadenas ARN y de ADN complementarias.

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula VI:



en donde:

Bx es un fracción de base heterocíclica;

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

cada qi, qj, qk y ql es, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alqueno C₂-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂ sustituido, alquino C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂ sustituido, alcoxilo C₁-C₁₂, alcoxilo C₁-C₁₂ sustituido, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO₂J_j, NJ_jJ_k, N₃, CN, C(=O)OJ_j, C(=O)NJ_jJ_k, C(=O)J_j, O-C(=O)NJ_jJ_k, N(H)C(=NH)NJ_jJ_k, N(H)C(=O)NJ_jJ_k o N(H)C(=S)NJ_jJ_k; y

qi y qj o ql y qk juntos son =C(q_g)(q_h), en donde q_g y q_h son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₁₂ o alquilo C₁-C₁₂ sustituido.

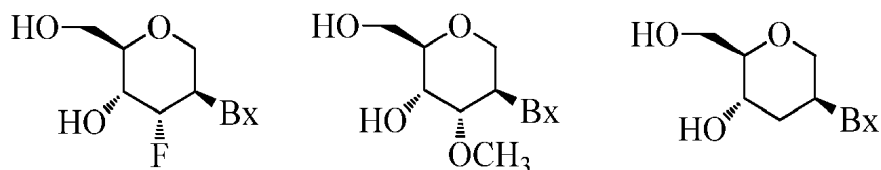
Se ha descrito un nucleósido bicíclico carbocíclico que tiene un puente 4'-(CH₂)₃-2' y el puente análogo de alqueno 4'-CH=CH-CH₂-2' (Freier et al., *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4429-4443 y Albaek et al., *J. Org. Chem.*, 2006, 71, 7731-7740). También se ha descrito la síntesis y preparación de nucleósidos bicíclicos carbocíclicos junto con sus estudios de oligomerización y bioquímicos (Srivastava et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(26), 8362-8379).

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

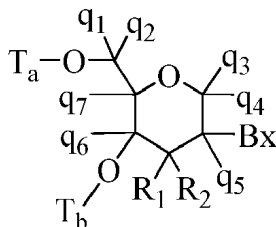
Como se usa en la presente, "nucleósidos monocíclicos" se refiere a nucleósidos que comprenden fracciones de azúcar modificado que no son fracciones de azúcares bicíclico. En ciertas realizaciones, la fracción de azúcar, o análogo de fracción azúcar, de un nucleósido puede modificarse o sustituirse en cualquier posición.

Como se usa en la presente, "azúcar 2'-modificado" significa un azúcar de furanosilo modificado en la posición 2'. En ciertas realizaciones, tales modificaciones incluyen sustituyentes seleccionados de: un haluro, incluyendo, pero no limitado a, alcoxi sustituido y no sustituido, tioalquilo sustituido y no sustituido, aminoalquilo sustituido y no sustituido, alquilo sustituido y no sustituido, alilo sustituido y no sustituido, y alquino sustituido y no sustituido. En ciertas realizaciones, las modificaciones 2' se seleccionan de los sustituyentes que incluyen, pero no están limitados a: O[(CH₂)_nO]_mCH₃, O(CH₂)_nNH₂, O(CH₂)_nCH₃, O(CH₂)_nF, O(CH₂)_nONH₂, OCH₂C(=O)N(H)CH₃, y O(CH₂)_nN[(CH₂)_nCH₃]₂, donde n y m son de 1 a aproximadamente 10. Otros grupos 2'-sustituyentes también pueden seleccionarse de: alquilo C₁-C₁₂, alquilo sustituido, alqueno, alquino, alcarilo, aralquilo, O-alcarilo u O-aralquilo, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, F, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, heterocicloalquilo, heterocicloalcarilo, aminoalquilamino, polialquilamino, sililo sustituido, un grupo de escisión de ARN, un grupo indicador, un intercalador, un grupo para mejorar las propiedades farmacocinéticas o un grupo para mejorar las propiedades farmacodinámicas de un compuesto antisentido, y otros sustituyentes que tengan propiedades similares. En ciertas realizaciones, los nucleósidos modificados comprenden una cadena lateral 2'-MOE (Baker et al., *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 11944-12000). Se ha descrito que dicha sustitución 2'-MOE tiene una afinidad de unión mejorada en comparación con los nucleósidos no modificados y con otros nucleósidos modificados, como 2'-O-metilo, O-propilo, y O-aminopropilo. Los oligonucleótidos que tienen el sustituyente 2'-MOE también han mostrado ser inhibidores antisentido de la expresión génica con características prometedoras para su uso *in vivo* (Martin, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78, 486-504; Altmann et al., *Chimia*, 1996, 50, 168-176; Altmann et al., *Biochem. Soc. Trans.*, 1996, 24, 630-637; y Altmann et al., *Nucleosides Nucleotides*, 1997, 16, 917-926).

Como se usa en la presente, un "nucleósido de tetrahidropirano modificado" o "nucleósido de THP modificado" significa un nucleósido que tiene un "azúcar" de tetrahidropirano de seis miembros sustituido por el fracción de pentofuranosilo en nucleósidos normales (un sustituto del azúcar). Los nucleósidos de THP modificados incluyen, pero no están limitados a, lo que se conoce en la técnica como ácido nucleico hexitol (HNA), ácido nucleico anitol (ANA), ácido nucleico manitol (MNA) (ver Leumann, *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, 10, 841-854) o fluoro HNA (F-HNA) que tiene un sistema de anillo de tetrahidropirano como se ilustra a continuación:



En ciertas realizaciones, se seleccionan sustitutos de azúcar que tienen la Fórmula VII:



VII

en donde independientemente para cada uno de dichos por lo menos un análogo de nucleósido de tetrahidropirano de Fórmula VII:

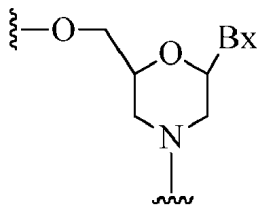
Bx es un fracción de base heterocíclica;

Ta y Tb son cada uno, independientemente, un grupo de enlace internucleosídico que enlaza el análogo nucleosídico de tetrahidropirano con el compuesto antisentido o uno de Ta y Tb es un grupo de enlace internucleosídico que une el análogo de nucleósido tetrahidropirano con el compuesto antisentido y el otro de Ta y Tb es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado enlazado o un grupo 5' o 3'-terminal;

q1, q2, q3, q4, q5, q6 y q7 son cada uno independientemente, H, alquilo C1-C6, alquilo C1-C6 sustituido, alqueno C2-C6, alqueno C2-C6 sustituido, alquino C2-C6 o alquino C2-C6 sustituido; y cada uno de R1 y R2 se selecciona de hidrógeno, hidroxilo, halógeno, alcoxi sustituido o no sustituido, NJ1J2, SJ1, N3, OC(=X)J1, OC(=X)NJ1J2, NJ3C(=X)NJ1J2 y CN, en donde X es O, S o NJ1 y cada J1, J2 y J3 es, independientemente, H o alquilo C1-C6.

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos de THP modificados de Fórmula VII en los que q1, q2, q3, q4, q5, q6 y q7 son cada uno H. En ciertas realizaciones, por lo menos uno de q1, q2, q3, q4, q5, q6 y q7 es distinto de H. En ciertas realizaciones, por lo menos uno de q1, q2, q3, q4, q5, q6 y q7 es metilo. En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos de THP de fórmula VII en los que uno de R1 y R2 es flúor. En ciertas realizaciones, R1 es flúor y R2 es H; R1 es metoxi y R2 es H, y R1 es metoxietoxi y R2 es H.

En ciertas realizaciones, los sustitutos del azúcar comprenden anillos que tienen más de 5 átomos y más de un heteroátomo. Por ejemplo, se ha informado de nucleósidos que comprenden fracciones de azúcar morfolino y su uso en compuestos oligoméricos (ver, por ejemplo, Braasch et al., Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510; y Patentes de Estados Unidos 5.698.685; 5.166.315; 5.185.444; y 5.034.506). Como se usa aquí, el término "morfolino" significa un sustituto del azúcar que tiene la fórmula siguiente:

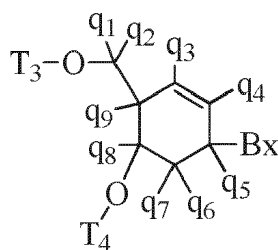


En ciertas realizaciones, los morfolinos pueden modificarse, por ejemplo, añadiendo o alterando varios grupos sustituyentes de la estructura de morfolino anterior. Tales sustitutos del azúcar son referidos en la presente como "morfolinos modificados".

También se proporcionan combinaciones de modificaciones sin limitación, como nucleósidos sustituidos con 2'-F-5'-metilo (ver Solicitud Internacional de PCT WO 2008/101157 publicada el 21/8/08 para otros nucleósidos sustituidos con 5',2'-bis divulgados) y el reemplazo del átomo de oxígeno del anillo de ribosilo con S y una sustitución adicional en la posición 2' (ver la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada US2005-0130923, publicada el 16 de junio de 2005) o alternativamente, la sustitución 5' de un ácido nucleico bicíclico (ver Solicitud Internacional de PCT WO 2007/134181, publicada el 22/11/07 en donde un nucleósido bicíclico 4'-CH2-O-2' está sustituido adicionalmente en la posición 5' con un grupo 5'-metilo o 5'-vinilo). También se han descrito la síntesis y preparación

de nucleósidos bicíclicos carbocíclicos junto con sus estudios de oligomerización y bioquímicos (ver, *por ejemplo*, Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc. 2007, 129(26), 8362-8379).

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



X

en donde independientemente para cada uno de dichos por lo menos un análogo de nucleósido de ciclohexenilo de Fórmula X:

Bx es una fracción de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de enlace internucleosídico que enlaza el análogo nucleosídico de ciclohexenilo con un compuesto antisentido o uno de T₃ y T₄ es un grupo de enlace internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano con un compuesto antisentido y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado enlazado, o un grupo 5' o 3'-terminal; y q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆, q₇, q₈ y q₉ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆, alquino C₂-C₆ sustituido u otro grupo sustituyente de azúcar.

Como se usa en la presente, "2'-modificado" o "2'-sustituido" se refiere a un nucleósido que comprende un azúcar que comprende un sustituyente en la posición 2' diferente de H u OH. Los nucleósidos 2'-modificados incluyen, pero no están limitados a, nucleósidos bicíclicos en los que el puente que conecta dos átomos de carbono del anillo de azúcar conecta el carbono 2' y otro carbono del anillo de azúcar; y nucleósidos con 2'-substituents sin puente, como alilo, amino, azido, tio, O-alilo, O- alquilo C₁-C₁₀, -OCF₃, O-(CH₂)₂-O-CH₃, 2'-O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), o O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n), donde cada R_m y R_n es, independientemente, H o alquilo C₁-C₁₀ sustituido o no sustituido. Los nucleósidos 2'-modificados pueden comprender además otras modificaciones, por ejemplo, en otras posiciones del azúcar y/o en la nucleobase.

Como se usa en la presente, "2'-F" se refiere a un nucleósido que comprende un azúcar que comprende un grupo flúor en la posición 2' del anillo de azúcar.

Como se usa en la presente, "2'-OMe" o "2'-OCH₃" o "2'-O-metilo" se refieren a un nucleósido que comprende un azúcar que comprende un grupo -OCH₃ en la posición 2' del anillo de azúcar.

Como se usa en la presente, "MOE" o "2'-MOE" o "2'-OCH₂CH₂OCH₃" o "2'-O-metoxietilo" se refiere cada uno a un nucleósido que comprende un azúcar que comprende un grupo -OCH₂CH₂OCH₃ en la posición 2' del anillo de azúcar.

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

También se conocen en la técnica muchos otros sistemas de anillos sustitutos de azúcar biciclo y triciclo que pueden usarse para modificar nucleósidos para su incorporación en compuestos antisentido (ver por ejemplo artículo de revisión: Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854). Tales sistemas de anillos pueden experimentar varias sustituciones adicionales para mejorar la actividad.

Los métodos para la preparación de azúcares modificados son bien conocidos por los expertos en la técnica. Algunas patentes de Estados Unidos representativas que enseñan la preparación de tales azúcares modificados incluyen, sin limitación, U.S.: 4.981.957; 5.118.800; 5.319.080; 5.359.044; 5.393.878; 5.446.137; 5.466.786; 5.514.785; 5.519.134; 5.567.811; 5.576.427; 5.591.722; 5.597.909; 5.610.300; 5.627.053; 5.639.873; 5.646.265; 5.670.633; 5.700.920; 5.792.847 y 6.600.032 y la Solicitud Internacional PCT/US2005/019219, presentada el 2 de junio de 2005 y publicada como WO 2005/121371 el 22 de diciembre de 2005.

En nucleótidos que tienen fracciones de azúcar modificado, las fracciones de nucleobase (naturales, modificados o combinación de los mismos) se mantienen para la hibridación con un objetivo de ácido nucleico apropiado.

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido comprenden uno o más nucleósidos que tienen fracciones de azúcar modificado. En ciertas realizaciones, la fracción de azúcar modificado es 2'-MOE. En ciertas realizaciones, los nucleósidos 2'-MOE modificados están dispuestos en un motivo gapmer. En ciertas realizaciones, la fracción de azúcar modificado es un nucleósido bicíclico que tiene un grupo puente (4'-CH(CH₃)-O-2'). En ciertas realizaciones, los nucleósidos modificados con (4'-CH(CH₃)-O-2') están dispuestos a lo largo de las alas de un motivo gapmer.

Nucleobases modificadas

Las modificaciones o sustituciones de nucleobase (o base) son estructuralmente distinguibles de, pero funcionalmente intercambiables con nucleobases no modificadas de origen natural o sintéticas. Tanto las nucleobases naturales como las modificadas son capaces de participar en enlaces de hidrógeno. Tales modificaciones de nucleobase pueden impartir estabilidad de nucleasa, afinidad de unión o alguna otra propiedad biológica beneficiosa a compuestos antisentido. Las nucleobases modificadas incluyen nucleobases sintéticas y naturales como, por ejemplo, 5-metilcitosina (5-me-C). Ciertas sustituciones de nucleobases, incluyendo las sustituciones de 5-metilcitosina, son particularmente útiles para aumentar la afinidad de unión de un compuesto antisentido para un ácido nucleico objetivo. Por ejemplo, las sustituciones de 5-metilcitosina han mostrado que aumentan la estabilidad del dúplex de ácido nucleico en 0,6-1,2° C (Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. y Lebleu, B., eds., Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278).

Las nucleobases modificadas adicionales incluyen 5-hidroximetil citosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-metilo y otros derivados alquílicos de adenina y guanina, 2-propilo y otros derivados alquílicos de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2 -tiocitosina, 5-halouracilo y citosina, 5-propinil (-C≡C-CH₃) uracilo y citosina y otros derivados alquílicos de bases de pirimidina, 6-azo uracilo, citosina y timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo, 8-amino, 8-tiol, 8-tioalquilo, 8-hidroxilo y otras adeninas y guaninas 8-sustituidas, 5-halo particularmente 5-bromo, 5-trifluorometilo y otros uracilos y citosinas 5-sustituidas, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 2-F-adenina, 2-amino-adenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-deazaguanina y 7-deazaadenina y 3-deazaguanina y 3-deazaadenina.

Las fracciones de bases heterocíclicas también pueden incluir aquellas en las que la base de purina o pirimidina se reemplaza con otros heterociclos, por ejemplo, 7-deaza-adenina, 7-deazaguanosina, 2-aminopiridina y 2-piridona. Las nucleobases que son particularmente útiles para aumentar la afinidad de unión de los compuestos antisentido incluyen pirimidinas 5-sustituidas, 6-azapirimidinas y purinas N-2, N-6 y O-6 sustituidas, incluyendo 2 aminopropiladenina, 5-propiniluracilo y 5-propinilcitosina.

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

Compuestos antisentido conjugados

En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona compuestos antisentido conjugados. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona compuestos antisentido conjugados que comprenden un oligonucleótido antisentido complementario a un transcrito de ácido nucleico. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto antisentido conjugado que comprende un oligonucleótido antisentido complementario a un transcrito de ácido nucleico. En

ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto antisentido conjugado que comprende un oligonucleótido antisentido y reducir la cantidad o actividad de un transcrito de ácido nucleico en una célula.

5 Se ha descrito con anterioridad el receptor de asialoglicoproteína (ASGP-R). Ver, por ejemplo, Park et al., PNAS vol. 102, Nº 47, págs. 17125-17129 (2005). Tales receptores se expresan en las células del hígado, particularmente en los hepatocitos. Además, se ha demostrado que los compuestos que comprenden grupos de tres ligandos de N-acetilgalactosamina (GalNAc) son capaces de unirse al ASGP-R, dando como resultado la captación del compuesto en la célula. Ver, por ejemplo, Khorev et al., Bioorganic and Medicinal Chemistry, 16, 9, pp 5216-5231
10 (mayo de 2008). Por consiguiente, los conjugados que comprenden tales grupos de GalNAc se han usado para facilitar la captación de ciertos compuestos en células hepáticas, específicamente los hepatocitos. Por ejemplo, se ha demostrado que ciertos conjugados que contienen GalNAc aumentan la actividad de los compuestos de ARNip dúplex en células hepáticas in vivo. En tales casos, el conjugado que contiene GalNAc se une típicamente a la cadena con sentido del dúplex de ARNip. Como la cadena con sentido se descarta antes de que la cadena antisentido hibride en última instancia con el ácido nucleico objetivo, hay poca preocupación de que el conjugado interfiera con la actividad. Típicamente, el conjugado está unido al extremo 3' de la cadena con sentido del ARNip. Ver, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos 8.106.022. Ciertos grupos conjugados descritos en la presente son más activos y/o más fáciles de sintetizar que los grupos conjugados descritos anteriormente.

20 En ciertas realizaciones de la presente invención, los conjugados se unen a compuestos antisentido de cadena sencilla, incluyendo, pero no limitados a, compuestos antisentido a base de RNasa H y compuestos antisentido que alteran el corte y empalme de un ácido nucleico objetivo pre-ARNm. En tales realizaciones, el conjugado debe permanecer unido al compuesto antisentido el tiempo suficiente para proporcionar un beneficio (captación mejorada en las células) pero luego debe escindirse, o no interferir de otra manera con los pasos posteriores necesarios para la actividad, como la hibridación con un ácido nucleico objetivo y la interacción con RNasa H o enzimas asociadas con el corte y empalme o la modulación del corte y empalme. Este equilibrio de propiedades es más importante en el establecimiento de compuestos antisentido de cadena sencilla que en los compuestos de ARNip, donde el conjugado puede unirse simplemente a la cadena con sentido. En la presente se divulgan compuestos antisentido de cadena sencilla conjugados que tienen una potencia mejorada en células hepáticas in vivo en comparación con el mismo compuesto antisentido que carece del conjugado. Dado el equilibrio de propiedades requerido para estos compuestos tal potencia mejorada es sorprendente.

35 En ciertas realizaciones, los grupos conjugados de la presente comprenden una fracción escindible. Como se ha indicado, sin desear estar limitados por ningún mecanismo, es lógico que el conjugado permanezca en el compuesto el tiempo suficiente como para proporcionar una mejora en la captación, pero después de eso, es deseable que una parte o, idealmente, todo el conjugado se escinda, liberando el compuesto original (por ejemplo, compuesto antisentido) en su forma más activa. En ciertas realizaciones, la fracción escindible es un nucleósido escindible. Tales realizaciones aprovechan las nucleasas endógenas en la célula uniendo la fracción del conjugado (el grupo) con el oligonucleótido antisentido a través de un nucleósido mediante uno o más enlaces escindibles, como los de un enlace fosfodiéster. En ciertas realizaciones, el grupo se une al nucleósido escindible a través de un enlace fosfodiéster. En ciertas realizaciones, el nucleósido escindible se une al oligonucleótido antisentido (compuesto antisentido) mediante un enlace fosfodiéster. En ciertas realizaciones, el grupo conjugado puede comprender dos o tres nucleósidos escindibles. En tales realizaciones, dichos nucleósidos escindibles se enlazan entre sí, al compuesto antisentido y/o al grupo a través de enlaces escindibles (como los de un enlace fosfodiéster).
40 Ciertos conjugados de la presente no comprenden un nucleósido escindible y en su lugar comprenden un enlace escindible. Se muestra que esa escisión suficiente del conjugado del oligonucleótido se proporciona por al menos un enlace que es vulnerable a la escisión en la célula (un enlace escindible).

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

55 En ciertas realizaciones, los conjugados están unidos en el extremo 5' de un oligonucleótido. Ciertos de tales conjugados 5' se escinden más eficientemente que sus contrapartidas que tienen un grupo conjugado similar unido en el extremo 3'. En ciertas realizaciones, una actividad mejorada puede correlacionarse con una escisión mejorada. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado en el extremo 5' tienen mayor eficacia que los oligonucleótidos que comprenden un conjugado en el extremo 3' (ver, por ejemplo, los Ejemplos 56, 81, 83 y 84). Además, la unión 5' permite una síntesis de oligonucleótidos más simple. Típicamente, los oligonucleótidos se sintetizan sobre un soporte sólido en la dirección 3' a 5'. Para elaborar un oligonucleótido 3' conjugado, típicamente se une un nucleósido 3' preconjugado al soporte sólido y luego se construye el oligonucleótido como de costumbre. Sin embargo, unir ese nucleósido conjugado al soporte sólido añade complicación a la síntesis. Además, usando ese enfoque, el conjugado está entonces presente a lo largo de la síntesis del oligonucleótido y puede degradarse durante los pasos posteriores o puede limitar el tipo de reacciones y reactivos que pueden usarse. Usando las estructuras y técnicas descritas en la presente para oligonucleótidos 5'
60
65

conjugados, se puede sintetizar el oligonucleótido usando técnicas automatizadas estándar e introducir el conjugado con el nucleósido final (más 5') o después de que el oligonucleótido se haya escindido del soporte sólido.

5 En vista de la técnica y la presente divulgación, un experto en la técnica puede elaborar fácilmente cualquiera de los conjugados y oligonucleótidos conjugados de la presente. Además, la síntesis de ciertos de tales
10 conjugados y oligonucleótidos conjugados divulgados en la presente es más fácil y/o requiere pocos pasos, y por lo tanto es menos costosa que la de los conjugados divulgados anteriormente, proporcionando ventajas en la fabricación. Por ejemplo, la síntesis de ciertos grupos conjugados consta de menos pasos sintéticos, dando como
15 resultado un rendimiento aumentado, en relación con los grupos conjugados descritos anteriormente. Los grupos conjugados como el GalNAc3-10 en el Ejemplo 46 y el GalNAc3-7 en el Ejemplo 48 son mucho más simples que los conjugados descritos anteriormente, como los descritos en las U.S. 8.106.022 o U.S. 7.262.177 que requieren el ensamblaje de más productos químicos intermedios. Por consiguiente, estos y otros conjugados descritos en la presente tienen ventajas sobre los compuestos descritos anteriormente para su uso con cualquier oligonucleótido, incluyendo los oligonucleótidos de cadena sencilla y cualquier cadena de los oligonucleótidos de cadena doble (por ejemplo, ARNip).

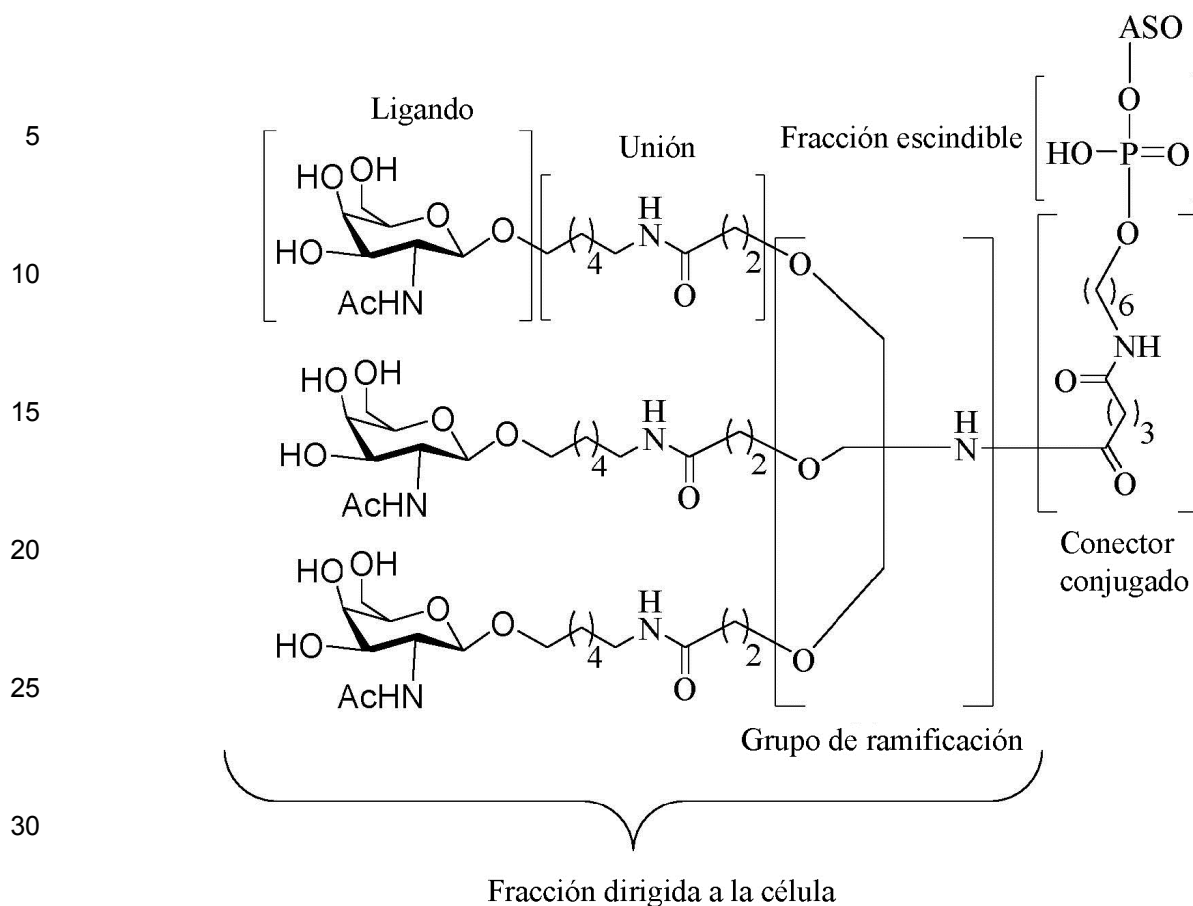
20 De manera similar, en la presente se divulgan grupos conjugados que tienen solo uno o dos ligandos de GalNAc. Como se muestra, tales grupos conjugados mejoran la actividad de los compuestos antisentido. Tales compuestos son mucho más fáciles de preparar que los conjugados que comprenden tres ligandos de GalNAc. Los grupos conjugados que comprenden uno o dos ligandos de GalNAc pueden unirse a cualquier compuesto antisentido, incluyendo los oligonucleótidos de cadena sencilla y cualquier cadena de oligonucleótidos de cadena doble (por ejemplo, ARNip).

25 En ciertas realizaciones, los conjugados de la presente no alteran sustancialmente ciertas medidas de tolerabilidad. Por ejemplo, en la presente se muestra que los compuestos antisentido conjugados no son más inmunogénicos que los compuestos originales no conjugados. Como se mejora la potencia, las realizaciones en las que la tolerabilidad sigue siendo la misma (o incluso si la tolerabilidad empeora solo ligeramente en comparación con las ganancias en potencia) tienen propiedades mejoradas para la terapia.

30 En ciertas realizaciones, la conjugación permite alterar compuestos antisentido de maneras que tienen consecuencias menos atractivas en ausencia de conjugación. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, reemplazar uno o más enlaces de fosforotioato de un compuesto antisentido de fosforotioato completo con enlaces de fosfodiéster da como resultado una mejora en algunas medidas de tolerabilidad. Por ejemplo, en ciertos casos, tales compuestos
35 antisentido que tienen uno o más fosfodiésteres son menos inmunogénicos que el mismo compuesto en el que cada enlace es un fosforotioato. Sin embargo, en ciertos casos, como se muestra en el Ejemplo 26, ese mismo reemplazo de uno o más enlaces de fosforotioato con enlaces de fosfodiéster también da como resultado una captación celular y/o pérdida en la potencia reducidas. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido conjugados descritos en la presente toleran dicho cambio en los enlaces con poca o ninguna pérdida en la captación y en la potencia cuando se comparan con la contrapartida de fosforotioato completo conjugado. De hecho, en ciertas realizaciones, por ejemplo,
40 en los Ejemplos 44, 57, 59 y 86, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado y al menos un enlace internucleosídico de fosfodiéster muestran en realidad potencia aumentada in vivo incluso en relación con una contrapartida de fosforotioato completo que también comprende el mismo conjugado. Además, como la conjugación da como resultado aumentos sustanciales en la captación/potencia, una pequeña pérdida en esa ganancia sustancial puede ser aceptable para lograr una tolerabilidad mejorada. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, los
45 compuestos antisentido conjugados comprenden por lo menos un enlace fosfodiéster.

50 En ciertas realizaciones, la conjugación de compuestos antisentido en la presente da como resultado un suministro, captación y actividad aumentados en los hepatocitos. Por tanto, se suministra más compuesto al tejido hepático. Sin embargo, en ciertas realizaciones, ese suministro aumentado por sí solo no explica el aumento completo de la actividad. En ciertas de tales realizaciones, se introduce más compuesto en los hepatocitos. En ciertas realizaciones, incluso esa captación de hepatocitos aumentada no explica el aumento completo de la actividad. En tales realizaciones, aumenta la captación productiva del compuesto conjugado. Por ejemplo, como se muestra en el Ejemplo 102, ciertas realizaciones de conjugados que contienen GalNAc aumentan el enriquecimiento de oligonucleótidos antisentido en hepatocitos frente a células no parenquimatosas. Este enriquecimiento es
55 beneficioso para oligonucleótidos que se dirigen a los genes que se expresan en los hepatocitos.

60 En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido conjugados de la presente dan como resultado una exposición renal reducida. Por ejemplo, como se muestra en el Ejemplo 20, las concentraciones de oligonucleótidos antisentido que comprenden ciertas realizaciones de conjugados que contienen GalNAc son más bajas en el riñón que la de los oligonucleótidos antisentido que carecen de un conjugado que contiene GalNAc. Esto tiene varias implicaciones terapéuticas beneficiosas. Para las indicaciones terapéuticas donde no se busca actividad en el riñón, la exposición al riñón corre el riesgo de toxicidad renal sin el beneficio correspondiente. Además, la alta concentración en el riñón da como resultado generalmente la pérdida del compuesto en la orina, lo que resulta en una depuración más rápida. De acuerdo con los objetivos no renales, la acumulación renal no es deseada.
65 En ciertas realizaciones, se proporcionan compuestos conjugados antisentido que tienen la estructura:



i. Ciertas Fracciones Escindibles

En ciertas realizaciones, una fracción escindible es un enlace escindible. En ciertas realizaciones, una fracción escindible comprende un enlace escindible. En ciertas realizaciones, el grupo conjugado comprende una fracción escindible. En ciertas de tales realizaciones, la fracción escindible se une al oligonucleótido antisentido. En ciertas de tales realizaciones, la fracción escindible se une directamente a la fracción dirigida a la célula. En ciertas de tales realizaciones, la fracción escindible se une al conector conjugado. En ciertas realizaciones, la fracción escindible comprende un fosfato o fosfodiéster. En ciertas realizaciones, la fracción escindible es un nucleósido o análogo de nucleósido escindible. En ciertas realizaciones, el nucleósido o análogo de nucleósido comprende una base heterocíclica opcionalmente protegida seleccionada de una purina, purina sustituida, pirimidina o pirimidina sustituida. En ciertas realizaciones, la fracción escindible es un nucleósido que comprende una base heterocíclica opcionalmente protegida seleccionada de uracilo, timina, citosina, 4-N-benzoilcitosina, 5-metilcitosina, 4-N-benzoil-5-metilcitosina, adenina, 6-N-benzoiladenina, guanina y 2-N-isobutirilguanina. En ciertas realizaciones, la fracción escindible es 2'-desoxi nucleósido que está unida a la posición 3' del oligonucleótido antisentido por un enlace fosfodiéster y está unida al conector por un enlace fosfodiéster o fosforotioato. En ciertas realizaciones, la fracción escindible es 2'-desoxi adenosina que está unida a la posición 3' del oligonucleótido antisentido por un enlace fosfodiéster y está unida al conector por un enlace fosfodiéster o fosforotioato. En ciertas realizaciones, la fracción escindible es 2'-desoxi adenosina que está unida a la posición 3' del oligonucleótido antisentido por un enlace fosfodiéster y están unida al conector por un enlace fosfodiéster.

En ciertas realizaciones, la fracción escindible está unida a la posición 3' del oligonucleótido antisentido. En ciertas realizaciones, la fracción escindible está unida a la posición 5' del oligonucleótido antisentido. En ciertas realizaciones, la fracción escindible está unida a una posición 2' del oligonucleótido antisentido. En ciertas realizaciones, la fracción escindible está unida al oligonucleótido antisentido por un enlace fosfodiéster. En ciertas realizaciones, la fracción escindible está unida al conector por un enlace fosfodiéster o un enlace fosforotioato. En ciertas realizaciones, la fracción escindible está unida al conector por un enlace fosfodiéster. En ciertas realizaciones, el grupo conjugado no incluye una fracción escindible.

ii. En ciertas realizaciones, la fracción escindible se escinde después de que el complejo se ha administrado a un animal solo después de ser internalizado por una célula objetivo. Dentro de la célula, la fracción escindible se escinde liberando de este modo el oligonucleótido antisentido activo. Sin querer estar atado por la teoría, se cree

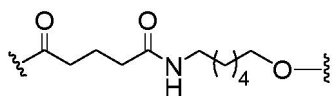
que la fracción escindible se escinde por una o más nucleasas dentro de la célula. En ciertas realizaciones, la una o más nucleasas escinden el enlace fosfodiéster entre la fracción escindible y el conector.

Ciertos Conectores

El grupo conjugado del compuesto de la invención comprende un conector. En ciertas de tales realizaciones, el conector se une covalentemente a la fracción escindible. En ciertas de tales realizaciones, el conector se une covalentemente al oligonucleótido antisentido. El conector se une covalentemente a una fracción dirigida a la célula.

El conector es un grupo lineal que comprende grupos alquilo, amida y éter. En ciertas realizaciones, el grupo lineal se une covalentemente a la fracción dirigida a la célula y la fracción escindible. En ciertas realizaciones, el grupo lineal se une covalentemente a la fracción dirigida a la célula y el oligonucleótido antisentido.

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

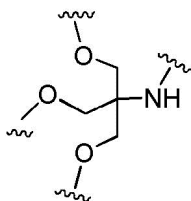


iii. Ciertas Fracciones Dirigidas a las Células

El grupo conjugado del compuesto de la invención comprende fracciones dirigidas a las células. Ciertas de tales fracciones dirigidas a las células aumentan la captación celular de los compuestos antisentido. Las fracciones dirigidas a las células comprenden un grupo de ramificación, tres uniones, y tres ligandos.

1. Ciertos Grupos de Ramificación

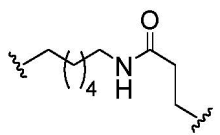
El grupo conjugado del compuesto de la invención comprende una fracción dirigida que comprende un grupo de ramificación y tres ligandos unidos. El grupo de ramificación une el conector conjugado. El grupo de ramificación está unido covalentemente al conector y cada uno de los tres ligandos unidos. El grupo de ramificación del compuesto de la invención tiene la estructura:



2. Ciertas Uniones

El grupo conjugado del compuesto de la invención comprende tres uniones unidas covalentemente al grupo de ramificación. La unión se une al grupo de ramificación a través de un grupo éter. La unión se une al ligando a través de un grupo éter.

La unión del compuesto de la invención tiene la estructura:

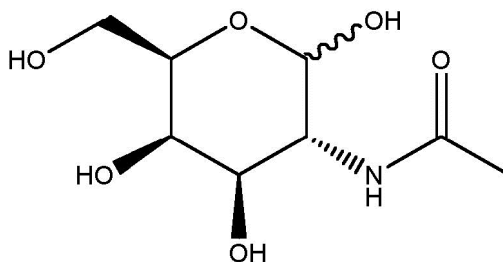


3. Ciertos Ligandos

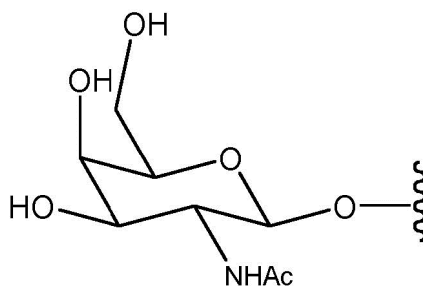
Cada ligando del compuesto está unido covalentemente a una unión. En ciertas realizaciones, cada ligando se selecciona para tener una afinidad por al menos un tipo de receptor en una célula objetivo. En ciertas realizaciones, se seleccionan ligandos que tienen una afinidad por al menos un tipo de receptor en la superficie de una célula hepática de mamífero. En ciertas realizaciones, se seleccionan ligandos que tienen afinidad por el receptor de asialoglicoproteína hepática (ASGP-R). En ciertas realizaciones de la divulgación, cada ligando es un carbohidrato. Cada ligando del compuesto de la invención es N-acetil galactoseamina (GalNAc). En ciertas realizaciones de la divulgación, la fracción dirigida del compuesto de la invención comprende 3 ligandos de N-acetil

galactoseamina.

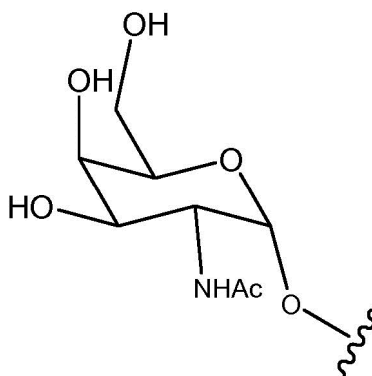
En ciertas realizaciones, "GalNac" o "Gal-NAc" se refiere a 2-(acetilamino)-2-desoxi-D-galactopiranosas, comúnmente referida en la bibliografía como N-acetil galactosamina. En ciertas realizaciones, "N-acetil galactosamina" se refiere a 2-(acetilamino)-2-desoxi-D-galactopiranosas. "GalNac" o "Gal-NAc" del compuesto de la invención se refiere a 2-(acetilamino)-2-desoxi-D-galactopiranosas, que está en la forma β : 2-(acetilamino)-2-desoxi- β -D-galactopiranosas. Adicionalmente a la presente invención, se divulga en la presente la forma α : 2-(acetilamino)-2-desoxi-D-galactopiranosas, que está representada por la referencia siguiente:



2-(Acetilamino)-2-desoxi-D-galactopiranosas



2-(Acetilamino)-2-desoxi- β -D-galactopiranosas

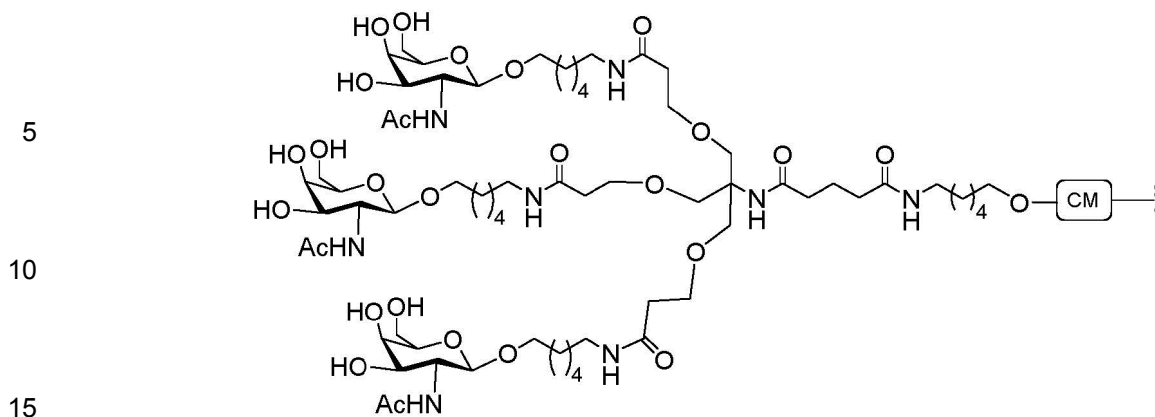


2-(Acetilamino)-2-desoxi- α -D-galactopiranosas

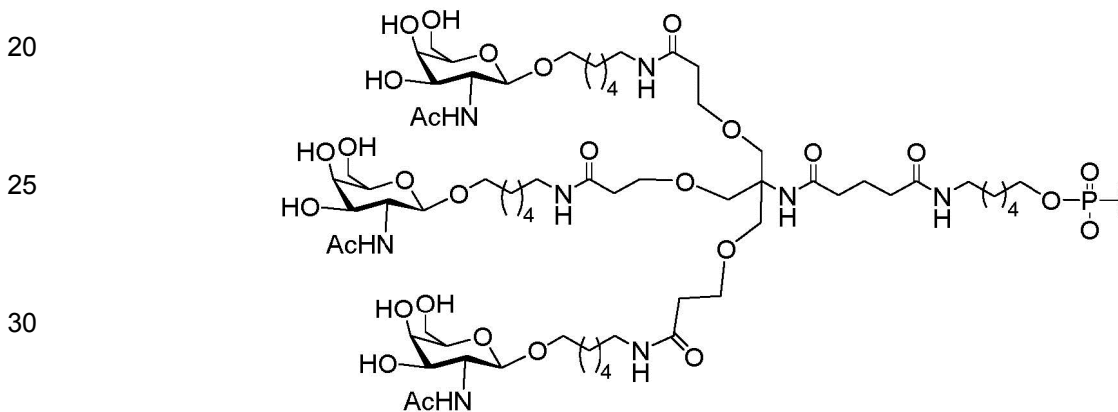
i. Ciertos Conjugados

En ciertas realizaciones, los grupos conjugados comprenden las características estructurales anteriores que son consistentes con las reivindicaciones adjuntas.

En ciertas de tales realizaciones, los grupos conjugados tienen la estructura siguiente:



En ciertas de tales realizaciones, los grupos conjugados tienen la estructura siguiente:



35 **a Ciertos compuestos antisentido conjugados**

En ciertas realizaciones, los conjugados están unidos a un nucleósido de un oligonucleótido antisentido en la posición 2', 3' o 5' del nucleósido. El compuesto antisentido conjugado puede tener la estructura siguiente:



en donde

- 45
- A es el oligonucleótido antisentido;
 - B es la fracción escindible
 - C es el conector conjugado
 - D es el grupo de ramificación
 - cada E es una unión
 - cada F es un ligando; y
 - 50 q es un número entero entre 1 y 5.

En ciertas realizaciones de la divulgación, un compuesto antisentido conjugado tiene la estructura siguiente:



en donde

- 60
- A es el oligonucleótido antisentido;
 - C es el conector conjugado
 - D es el grupo de ramificación
 - cada E es una unión
 - cada F es un ligando; y
 - 65 q es un número entero entre 1 y 5.

En ciertas de tales realizaciones, el conector conjugado comprende por lo menos un enlace escindible.

En ciertas de tales realizaciones, el grupo de ramificación comprende por lo menos un enlace escindible.

5 En ciertas realizaciones cada unión comprende por lo menos un enlace escindible.
 En ciertas realizaciones, los conjugados se unen a un nucleósido del oligonucleótido antisentido en la posición 2', 3', o 5' del nucleósido.

10 En ciertas realizaciones de la divulgación, un compuesto antisentido conjugado tiene la estructura siguiente:

$$A-B-C\{E-F\}_q$$

en donde

15 A es el oligonucleótido antisentido;
 B es la fracción escindible
 C es el conector conjugado
 cada E es una unión
 cada F es un ligando; y
 20 q es un número entero entre 1 y 5.

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

25
$$A-C\{E-F\}_q$$

en donde

30 A es el oligonucleótido antisentido;
 C es el conector conjugado
 cada E es una unión
 cada F es un ligando; y
 35 q es un número entero entre 1 y 5.

En ciertas realizaciones de la divulgación, un compuesto antisentido conjugado tiene la estructura siguiente:

40
$$A-B-D\{E-F\}_q$$

en donde

A es el oligonucleótido antisentido;
 B es la fracción escindible
 45 D es el grupo de ramificación
 cada E es una unión
 cada F es un ligando; y
 q es un número entero entre 1 y 5.

50 En ciertas realizaciones de la divulgación, un compuesto antisentido conjugado tiene la estructura siguiente:

$$A-D\{E-F\}_q$$

en donde

55 A es el oligonucleótido antisentido;
 D es el grupo de ramificación
 cada E es una unión
 cada F es un ligando; y
 60 q es un número entero entre 1 y 5.

Las Patentes de Estados Unidos, publicaciones de solicitud de patente de los Estados Unidos, y publicaciones internacionales de solicitud de patente representativas que enseñan la preparación de ciertos conjugados, compuestos antisentido conjugados, uniones, conectores, grupos de ramificación, ligandos, fracciones escindibles, así como otras modificaciones, indicados anteriormente incluyen, sin limitación, US 5.994.517, US 6.300.319, US 6.660.720, US 6.906.182, US 7.262.177, US 7.491.805, US 8.106.022, US 7.723.509, US

2006/0148740, US 2011/0123520, WO 2013/033230 y WO 2012/037254

Las publicaciones representativas que enseñan la preparación de ciertos conjugados, compuestos antisentido conjugados, uniones, conectores, grupos de ramificación, ligandos, fracciones escindibles, así como otras modificaciones, indicados anteriormente incluyen, sin limitación, BIESSEN et al., "The Cholesterol Derivative of a Triantennary Galactoside with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor: a Potent Cholesterol Lowering Agent" J. Med. Chem. (1995) 38:1846-1852, BIESSEN et al., "Synthesis of Cluster Galactosides with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (1995) 38:1538-1546, LEE et al., "New and more efficient multivalent glyco-ligands for asialoglycoprotein receptor of mammalian hepatocytes" Bioorganic & Medicinal Chemistry (2011) 19:2494-2500, RENSEN et al., "Determination of the Upper Size Limit for Uptake and Processing of Ligands by the Asialoglycoprotein Receptor on Hepatocytes in Vitro and in Vivo" J. Biol. Chem. (2001) 276(40):37577-37584, RENSEN et al., "Design and Synthesis of Novel NAcetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (2004) 47:5798-5808, SLIEDREGT et al., "Design and Synthesis of Novel Amphiphilic Dendritic Galactosides for Selective Targeting of Liposomes to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (1999) 42:609-618, y Valentijn et al., "Solid-phase synthesis of lysine-based cluster galactosides with high affinity for the Asialoglycoprotein Receptor" Tetrahedron, 1997, 53(2), 759-770.

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

Prueba in vitro de oligonucleótidos antisentido

En la presente se describen métodos para el tratamiento de células con oligonucleótidos antisentido, que pueden modificarse apropiadamente para el tratamiento con otros compuestos antisentido.

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

Un reactivo usado comúnmente para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye el reactivo de transfección de lípidos catiónicos LIPOFECTIN (Invitrogen, Carlsbad, CA). Los oligonucleótidos antisentido pueden mezclarse con LIPOFECTINA en OPTI-MEM 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para lograr la

concentración final deseada de oligonucleótido antisentido y una concentración de LIPOFECTINA que puede variar de 2 a 12 ug/ml por oligonucleótido antisentido 100 nM.

5 Otro reactivo usado para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye LIPOFECTAMINA (Invitrogen, Carlsbad, CA). El oligonucleótido antisentido se mezcla con LIPOFECTAMINA en medio de suero reducido OPTI-MEM 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para lograr la concentración deseada de oligonucleótido antisentido y una concentración de LIPOFECTAMINA que puede variar de 2 a 12 ug/ml por oligonucleótido antisentido 100 nM.

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

15 Otra técnica más usada para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye la captación libre de los oligonucleótidos por las células.

20 Las células se tratan con oligonucleótidos antisentido mediante métodos rutinarios. Las células pueden recogerse 16-24 horas después del tratamiento con oligonucleótido antisentido, momento en el que los niveles de ARN o proteína de los ácidos nucleicos diana se miden mediante métodos conocidos en la técnica y descritos en la presente. En general, cuando los tratamientos se realizan en múltiples repeticiones, los datos se presentan como la media de los tratamientos repetidos.

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

Aislamiento de ARN

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

Ciertas indicaciones

35 Ciertas realizaciones de la divulgación se refieren a métodos para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento en un sujeto mediante la administración de un inhibidor específico de CFB, como un compuesto antisentido dirigido a CFB.

40 Los ejemplos de enfermedades renales asociadas con la desregulación de la vía alternativa del complemento tratables, prevenibles y/o mejorables con los métodos proporcionados en la presente incluyen glomerulopatía C3, síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS), enfermedad por depósito denso (DDD; también conocida como MPGN Tipo II o C3Neph), y nefropatía CFHR5.

45 Las enfermedades renales adicionales asociadas con la desregulación de la vía alternativa del complemento tratables, prevenibles y/o mejorables con los métodos proporcionados en la presente incluyen nefropatía por IgA; glomerulonefritis mesangiocapilar (membranoproliferativa) (MPGN); trastornos autoinmunes que incluyen nefritis lúpica y lupus eritematoso sistémico (LES); glomerulonefritis inducida por infección (también conocida como glomerulonefritis postinfecciosa); y lesión por isquemia-reperusión renal, por ejemplo, lesión por isquemia-reperusión renal posterior al trasplante.

50 Los ejemplos de trastornos no renales asociados con la desregulación de la vía alternativa del complemento tratables y/o prevenibles con los métodos proporcionados en la presente incluyen enfermedades 55 oculares como la degeneración macular, por ejemplo degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), incluyendo la DMAE húmeda y la DMAE seca, como la Atrofia Geográfica; neuromielitis óptica; enfermedad de la córnea, como inflamación de la córnea; uveítis autoinmune; y la retinopatía diabética. Se ha informado que el sistema del complemento está implicado en las enfermedades oculares. Jha P, et al., Mol Immunol (2007) 44(16):3901-3908. Ejemplos adicionales de trastornos no renales asociados con la desregulación de la vía 60 alternativa del complemento tratables y/o prevenibles con los métodos proporcionados en la presente incluyen vasculitis asociada a ANCA, síndrome antifosfolípido (también conocido como síndrome de anticuerpo antifosfolípido (APS)), asma, artritis reumatoide, Miastenia grave y esclerosis múltiple.

65 Ciertas realizaciones de la divulgación se refieren a métodos para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad renal asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento en un sujeto mediante la

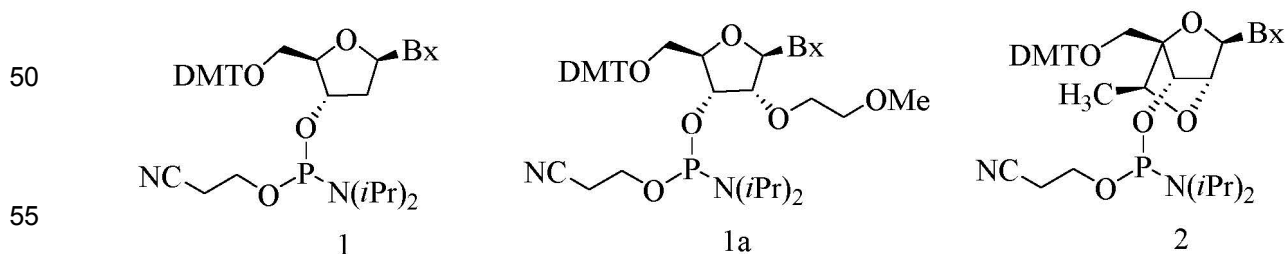
administración de un inhibidor específico de CFB, tal como un compuesto antisentido dirigido a CFB. En ciertas realizaciones, la enfermedad renal es nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósito denso (DDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5 o síndrome urémico hemolítico atípico (aUSH), o cualquier combinación de las mismas.

5 Ciertas realizaciones de la divulgación se refieren a métodos para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular, como la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), en un sujeto mediante la administración de un inhibidor específico de CFB, como un compuesto antisentido dirigido a CFB. En ciertos aspectos, la DMAE es DMAE húmeda o DMAE seca. En ciertos aspectos, la DMAE seca puede ser Atrofia Geográfica. Los estudios han demostrado la asociación de la desregulación de la vía alternativa del complemento y la DMAE. Los componentes del complemento son constituyentes comunes de las drusas oculares, el material extracelular que se acumula en la mácula de los pacientes con DMAE. Además, se ha informado que las variantes de CFH y CFB representan casi el 75% de los casos de DMAE en el norte de Europa y América del Norte. También se ha descubierto que un polimorfismo de CFB específico confiere protección contra DMAE. Patel, N. et al., *Eye* (2008) 22(6):768-76. Además, los ratones nulos homocigotos con CFB tienen una actividad de la vía del complemento más baja, muestran lesiones oculares más pequeñas y neovascularización coroidea (CNV) después de fotocoagulación con láser. Rohrer, B. et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci.* (2009) 50 (7):3056-64. Además, el tratamiento con ARNip del CFB protege a los ratones de la CNV inducida por láser. Bora, NS et al., *J. Immunol.* (2006) 177(3):1872-8. Los estudios también han demostrado que el riñón y el ojo comparten vías de desarrollo y características estructurales incluyendo la composición del protómero IV de colágeno de la membrana basal y la vascularidad. Savige et al., *J Am Soc Nephrol.* (2011) 22(8):1403-15. Hay evidencias de que la vía del complemento está implicada en enfermedades renales y oculares. Por ejemplo, la deficiencia proteica reguladora del complemento hereditaria provoca predisposición al síndrome urémico hemolítico atípico y la DMAE. Richards A et al., *Adv Immunol.* (2007) 96:141-77. Además, la enfermedad renal crónica se ha asociado con DMAE. Nitsch, D. et al., *Ophthalmic Epidemiol.* (2009) 16(3):181-6; Choi, J. et al, *Ophthalmic Epidemiol.* (2011) 18(6):259-63. La enfermedad por depósito denso (DDD), una enfermedad renal asociada con la vía alternativa del complemento desregulada, se caracteriza por síndrome nefrítico agudo y drusas oculares. Cruz y Smith, *GeneReviews* (2007) 20 de julio. Además, los ratones que albergan delección genética de un componente de la vía alternativa del complemento tienen fenotipos de enfermedades renales y oculares coexistentes. Se ha informado que los ratones nulos homocigotos de CFH desarrollan DDD y presentan anomalías retinales y disfunción visual. Pickering et al., *Nat Genet.* (2002) 31(4):424-8. Los modelos de ratón de enfermedades renales asociadas con la desregulación de la vía alternativa del complemento también se aceptan como modelos de DMAE. Pennesi ME et al., *Mol Apects Med* (2012) 33:487-509. Los ratones nulos de CFH, por ejemplo, son un modelo aceptado para enfermedades renales, como la DDD y la DMAE. Además, se ha informado que la DMAE está asociada con la fuente sistémica de factores del complemento, que se acumulan localmente en el ojo para impulsar la activación del complemento de la vía alternativa. Loyer et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* (2012) 53 (10):6628-37.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran ciertas realizaciones de la presente divulgación y no son limitativos. Además, cuando se proporcionan realizaciones específicas, los inventores han contemplado la aplicación genérica de esas realizaciones específicas. Por ejemplo, la divulgación de un oligonucleótido que tiene un motivo particular proporciona un soporte razonable para oligonucleótidos adicionales que tienen el mismo motivo o uno similar. Y, por ejemplo, cuando aparece una modificación de alta afinidad particular en una posición particular, otras modificaciones de alta afinidad en la misma posición se consideran adecuadas, a menos que se indique lo contrario.

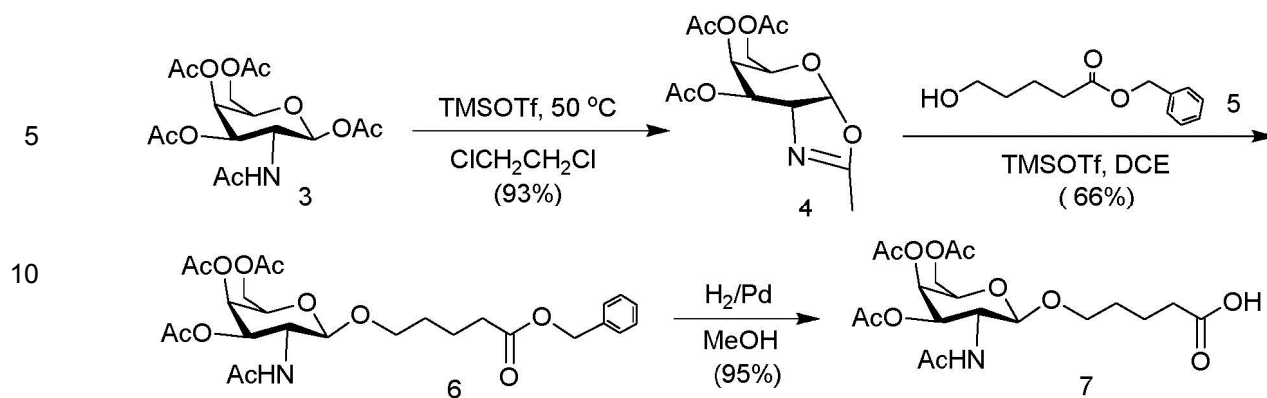
Ejemplo 1: Método general para la preparación de fosforamiditas, Compuestos 1, 1a y 2



Bx es una base heterocíclica;

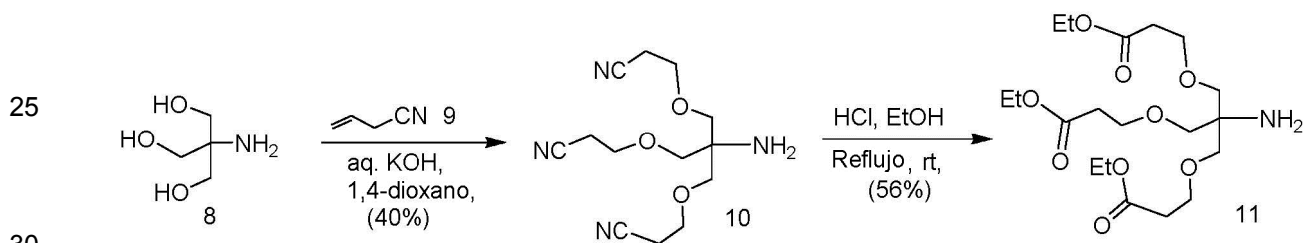
Los compuestos 1, 1a y 2 se prepararon de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica como se describe en la especificación de la presente (ver Seth et al., *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, 21(4), 1122-1125, *J. Org. Chem.*, 2010, 75(5), 1569-1581, *Nucleic Acids Symposium Series*, 2008, 52(1), 553-554); y ver también las Solicitudes Internacionales de PCT publicadas (WO 2011/115818, WO 2010/077578, WO2010/036698, WO2009/143369, WO 2009/006478, y WO 2007/090071), y la Patente de Estados Unidos 7.569.686).

65 Ejemplo 2: Preparación del Compuesto 7



Los compuestos 3 (2-acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-desoxi- β -Dgalactopiranososa o galactosamina pentaacetato) están comercialmente disponibles. El compuesto 5 se preparó de acuerdo con procedimientos publicados (Weber et al., J. Med. Chem., 1991, 34, 2692).

20 **Ejemplo 3: Preparación del Compuesto 11**



Los compuestos 8 y 9 están disponibles comercialmente.

35 **Ejemplo 4: Preparación del Compuesto 18**

40

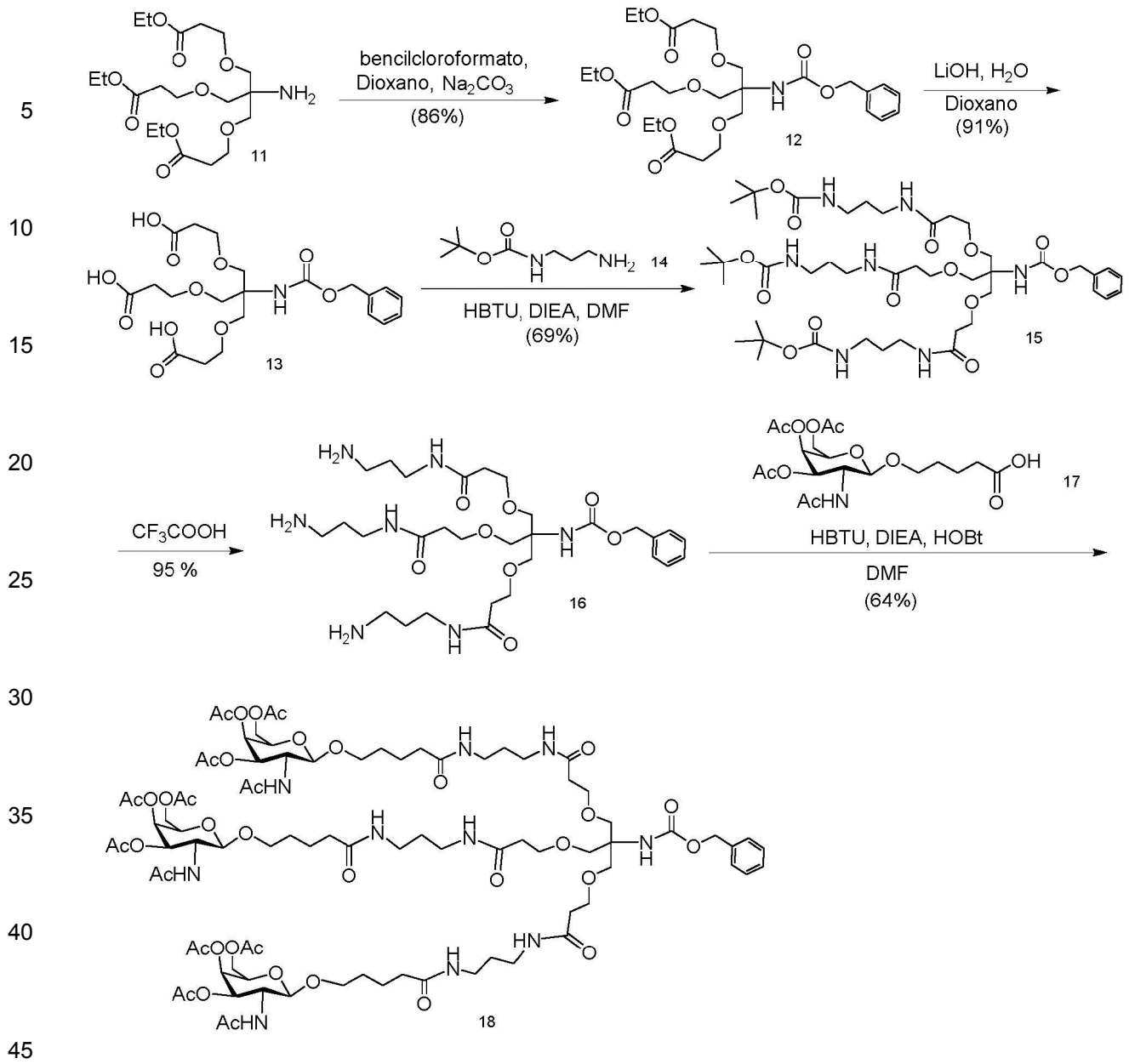
45

50

55

60

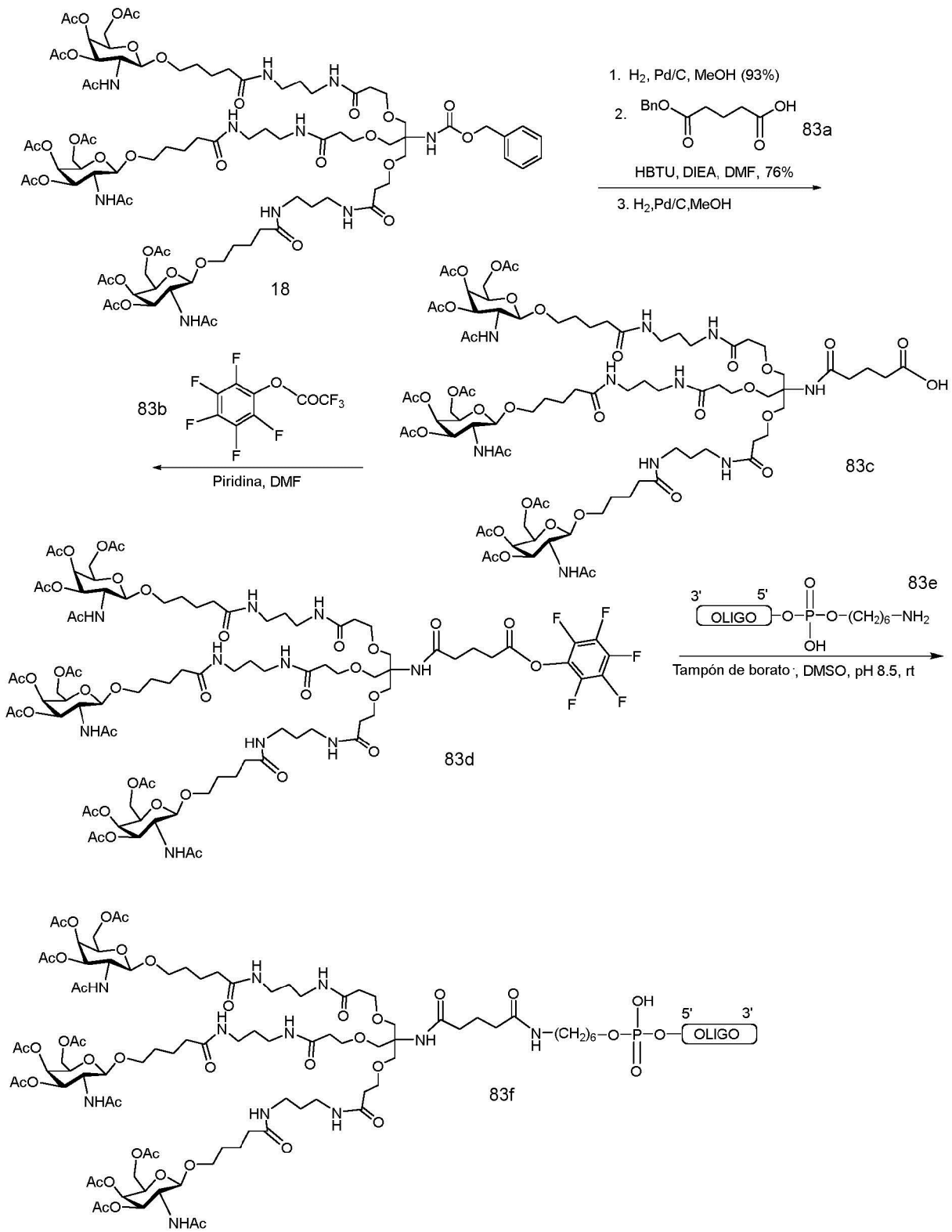
65

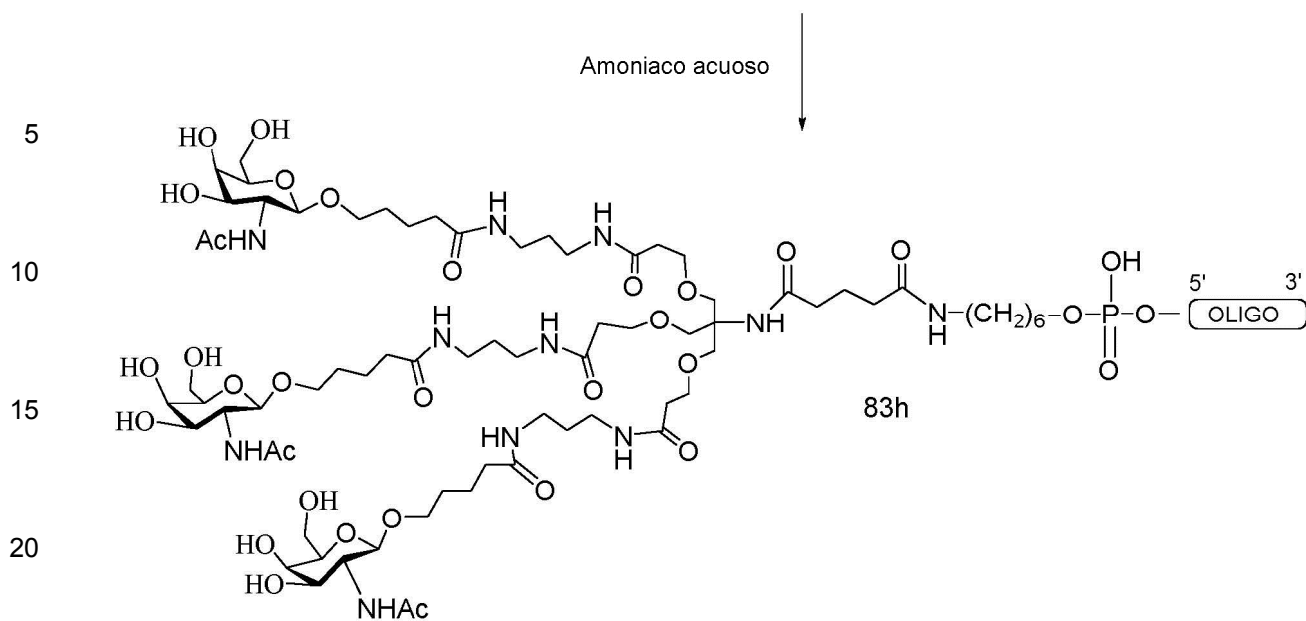


El Compuesto 11 se preparó de acuerdo con los procedimientos ilustrados en el Ejemplo 3. El Compuesto 14 está disponible comercialmente. El Compuesto 17 se preparó usando procedimientos similares informados por Rensen et al., J. Med. Chem., 2004, 47, 5798-5808.

Ejemplo 39: Método general para la preparación del compuesto oligomérico 83h que comprende un Conjugado de GalNAc₃-3 en el extremo terminal 5' (GalNAc₃-1 modificado para unión de extremo 5') a través de Soporte Sólido

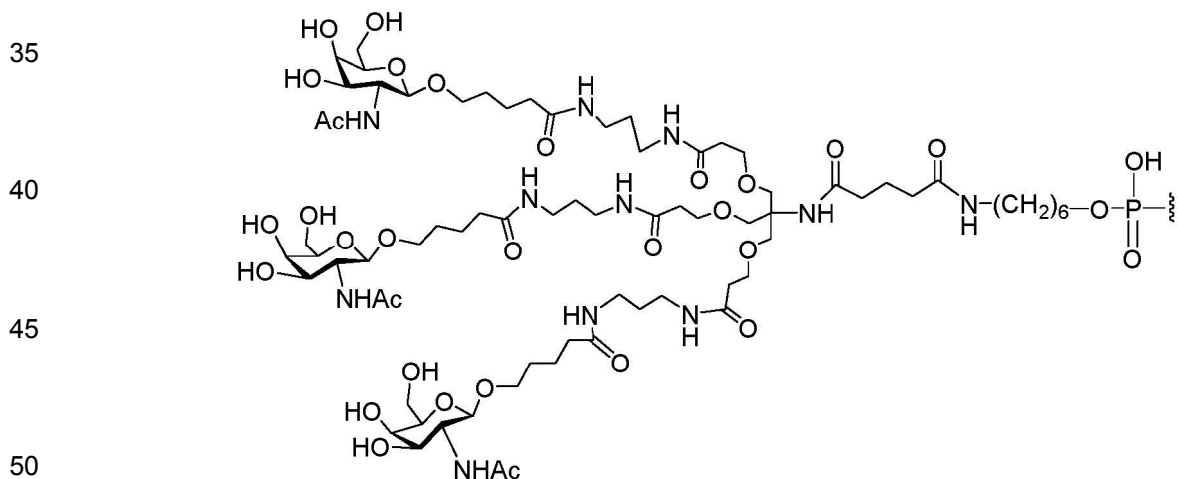
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



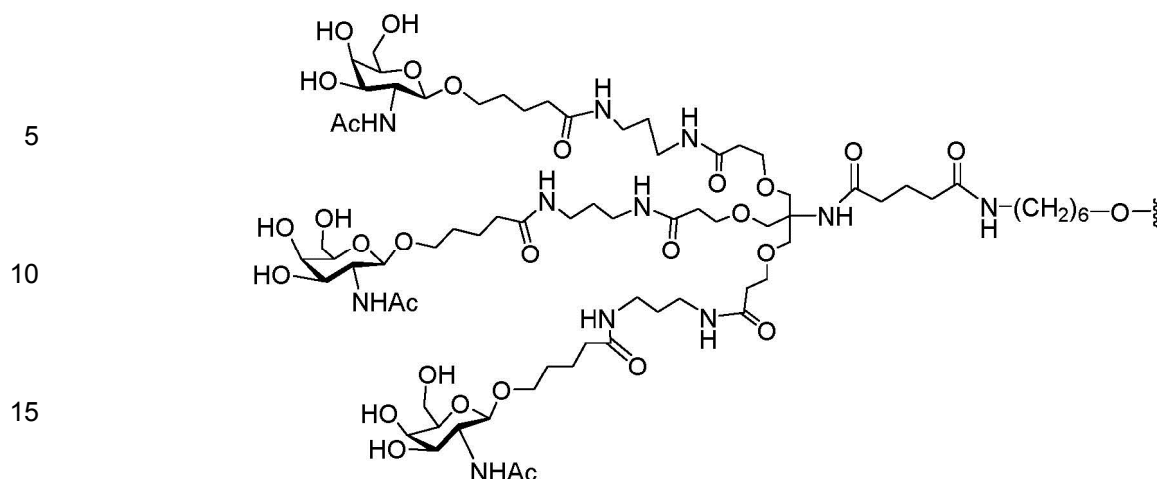


El Compuesto 18 se preparó de acuerdo con los procedimientos ilustrados en el Ejemplo 4. Los Compuestos 83a y 83b están disponibles comercialmente. El Compuesto oligomérico 83e que comprende una hexilamina enlazada con fosfodiéster se preparó usando procedimientos de síntesis de oligonucleótidos estándar. El tratamiento del compuesto oligomérico protegido con amoniaco acuoso proporcionó el compuesto oligomérico conjugado 5'-GalNAC₃-3 (83h).

En donde GalNAC₃-3 tiene la estructura:



La parte del grupo GalNAC₃ del grupo conjugado GalNAC₃-3 (GalNAC₃-3a) puede combinarse con cualquier fracción escindible para proporcionar una variedad de grupos conjugados en donde GalNAC₃-3a tiene la fórmula:



Ejemplo 44: Efecto de los enlaces PO/PS sobre la inhibición antisentido de ASO que comprenden el conjugado GalNAc₃-1 (ver el Ejemplo 9) en el extremo terminal 3' dirigido a SRB-1

Se probaron ISIS 655861 y 655862 que comprenden un conjugado GalNAc₃-1 en el extremo terminal 3', cada uno dirigido a SRB-1 en un único estudio de administración para su capacidad para inhibir SRB-1 en ratones. El compuesto no conjugado original, ISIS 353382, se incluyó en el estudio por comparación.

Los ASO son gapmers 5-10-5 MOE, en donde la región de hueco comprende diez 2'-desoxirribonucleósidos y cada región ala comprende cinco nucleósidos 2'-MOE modificados. Los ASO se prepararon usando métodos similares a los ilustrados anteriormente en el Ejemplo 19 y se describen en la Tabla 36, a continuación.

Tabla 36

ASO modificados que comprenden conjugado GalNAc ₃ -1 en el extremo terminal 3' dirigido a SRB-1			
Nº de ISIS	Secuencia (5' a 3')	Química	SEQ ID
353382 (original)	G ^{es} C ^{es} T ^{es} T ^{es} ^m C ^{es} A ^{ds} G ^{ds} T ^{ds} ^m C ^{ds} A ^{ds} T ^{ds} G ^{ds} A ^{ds} ^m C ^{ds} T ^{ds} T ^{es} ^m C ^{es} ^m C ^{es} T ^{es} T ^e	PS Completo sin conjugado	829
655861	G ^{es} ^m C ^{es} T ^{es} T ^{es} ^m C ^{es} A ^{ds} G ^{ds} T ^{ds} ^m C ^{ds} A ^{ds} T ^{ds} G ^{ds} A ^{ds} ^m C ^{ds} T ^{ds} T ^{es} ^m C ^{es} ^m C ^{es} T ^{es} T ^{eo} A_{do}'-GalNAc₃-1_a	PS completo con conjugado GalNAc₃-1	830
655862	G ^{es} ^m C ^{eo} T ^{eo} T ^{eo} ^m C ^{eo} A ^{ds} G ^{ds} T ^{ds} ^m C ^{ds} A ^{ds} T ^{ds} G ^{ds} A ^{ds} ^m C ^{ds} T ^{ds} T ^{eo} ^m C ^{eo} ^m C ^{es} T ^{es} T ^{eo} A_{do}'-GalNAc₃-1_a	PS/PO mixto con conjugado GalNAc₃-1	830

Subíndices: "e" indica nucleósido 2'-MOE modificado; "d" indica β-D-2'-desoxirribonucleósido; "s" indica enlaces internucleosídicos de fosforotioato (PS); "o" indica enlaces internucleosídicos de fosfodiéster (PO); y "o'" indica -O-P(=O)(OH)-. El superíndice "m" indica 5-metilcitosinas. La estructura de "GalNAc₃-1" se muestra en el Ejemplo 9.

Tratamiento

Se inyectó por vía subcutánea una vez a ratones Balb/c macho de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) a la dosificación mostrada a continuación con ISIS 353382, 655861, 655862 o con control tratado con PBS. Cada grupo de tratamiento consistía de 4 animales. Antes del tratamiento, así como después de la última dosis, se extrajo sangre de cada ratón y se analizaron muestras de plasma. Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la administración final para determinar los niveles de ARNm de SRB-1 en el hígado usando PCR en tiempo real y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con los protocolos estándar. Los niveles de ARNm de SRB-1 se determinaron con respecto al ARN total (usando Ribogreen), antes de la normalización al control tratado con PBS. Los resultados a continuación se presentan como el porcentaje medio de los niveles de ARNm de SRB-1 para cada grupo de tratamiento, normalizado al control tratado con PBS y se denota como "% de PBS". Se midieron las ED₅₀ usando métodos similares a los descritos anteriormente y se informan a continuación.

Como se ilustra en la Tabla 37, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido disminuyó los niveles de ARNm de SRB-1 de una manera dependiente de la dosis en comparación con el control tratado con PBS. De hecho, los oligonucleótidos antisentido que comprendían el conjugado GaINAc₃-1 en el extremo terminal 3' (ISIS 655861 y 655862) mostraron una mejora sustancial en la potencia en comparación con el oligonucleótido antisentido no conjugado (ISIS 353382). Además, ISIS 655862 con enlaces PS/PO mixtos mostró una mejora en la potencia con respecto al PS completo (ISIS 655861).

Tabla 37

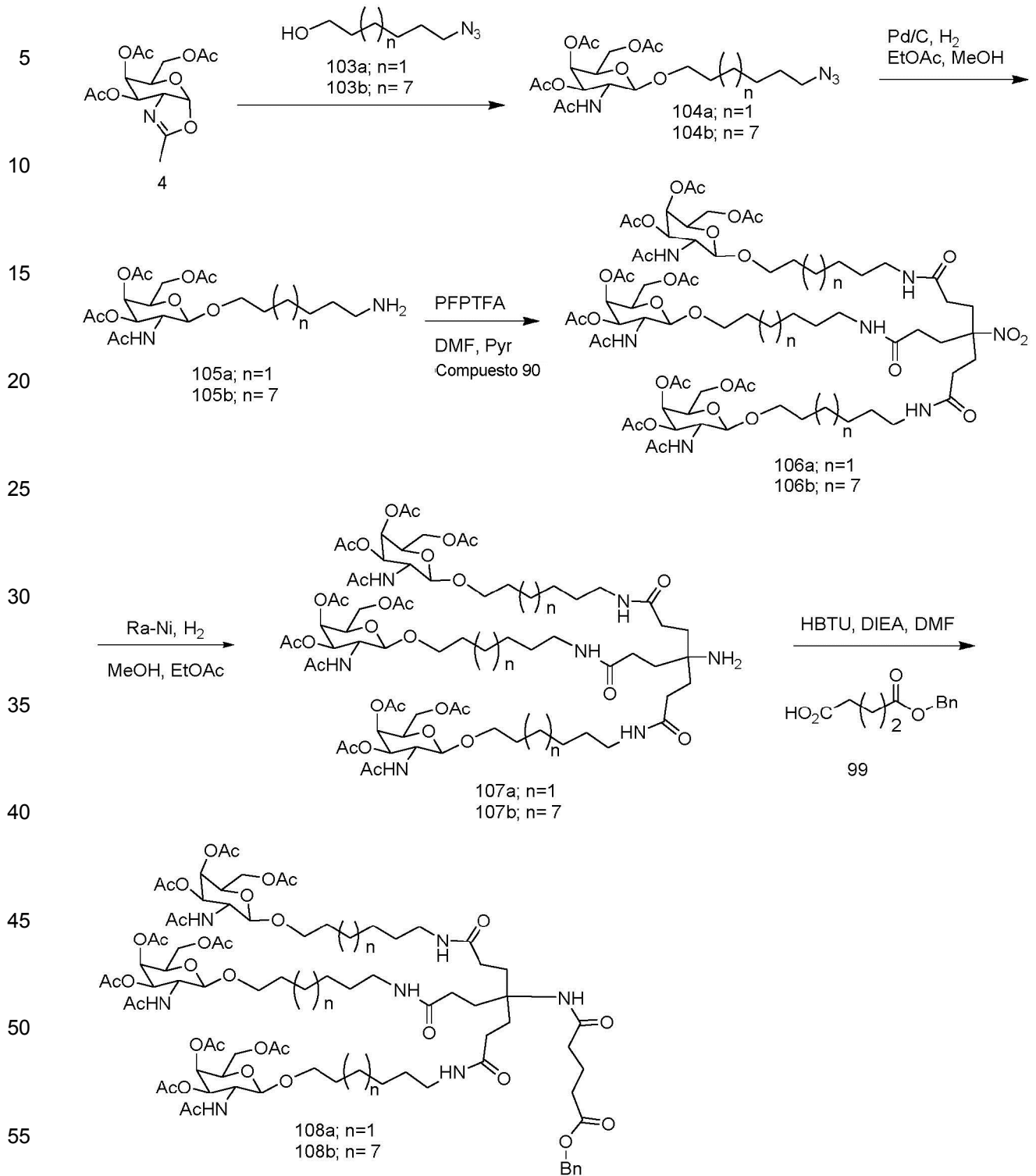
Efecto de enlaces de PO/PS sobre la inhibición antisentido de ASO que comprenden conjugado GaINAc₃-1 en el extremo terminal 3' dirigidos a SRB-1					
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	Niveles de ARNm de SRB-1 (%de PBS)	ED ₅₀ (mg/kg)	Química	SEQ ID No.
PBS	0	100	--	--	
353382 (original)	3	76.65	10.4	PS completo sin conjugado	829
	10	52.40			
	30	24.95			
655861	0.5	81.22	2.2	PS completo con conjugado GaINAc ₃ -1	830
	1.5	63.51			
	5	24.61			
	15	14.80			
655862	0.5	69.57	1.3	PS/PO mixto con conjugado GaINAc ₃ -1	830
	1.5	45.78			
	5	19.70			
	15	12.90			

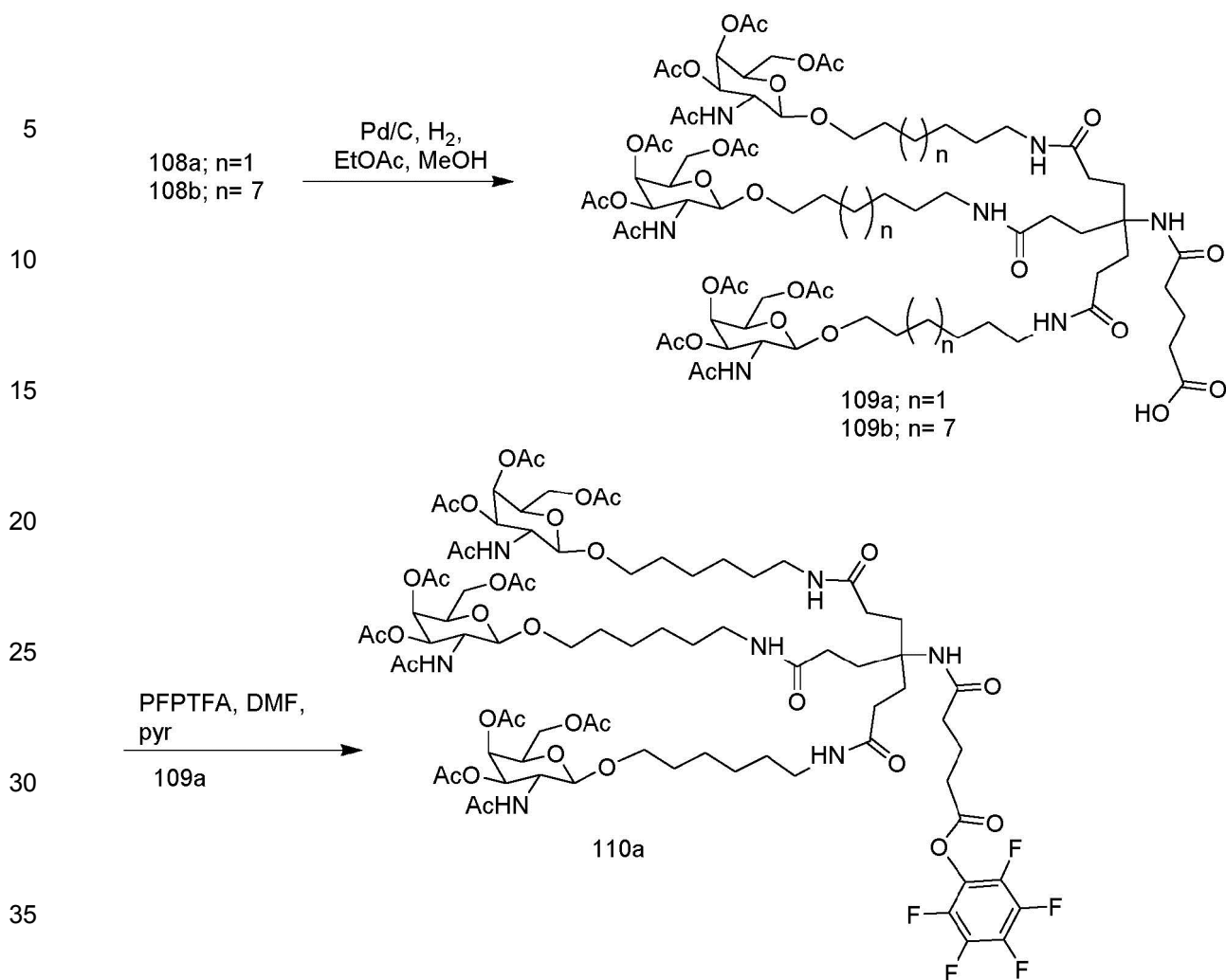
Se midieron los niveles de transaminasas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST), en suero, con respecto a los ratones inyectados con solución salina usando protocolos estándar. También se evaluaron los pesos de los órganos. Los resultados demostraron que no se observó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

Tabla 38

Efecto de enlaces PO/PS sobre los niveles de transaminasas de ASO que comprenden conjugado GaINAc₃-1 en el extremo terminal 3' dirigidos a SRB-1					
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Chemistry	SEQ ID NO.
PBS	0	28.5	65	—	
353382 (original)	3	50.25	89	PS completo sin conjugado	829
	10	27.5	79.3		
	30	27.3	97		
655861	0.5	28	55.7	PS completo con GaINAc₃-1	830
	1.5	30	78		
	5	29	63.5		
	15	28.8	67.8		
655862	0.5	50	75.5	PS/PO mixto con GaINAc₃-1	830
	1.5	21.7	58.5		
	5	29.3	69		
	15	22	61		

Ejemplo 45: Preparación de Éster de PFP, Compuesto 110a





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

Los compuestos 104a y 104b se trataron en las mismas condiciones que para los compuestos 100a-d (Ejemplo 47), para dar los compuestos 105a y 105b con >90% de rendimiento. La LCMS y NMR de protones fueron consistentes con la estructura.

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

Los compuestos 106a y 106b se trataron en las mismas condiciones que para los compuestos 96a-d (Ejemplo 47), para dar 107a (60%) y 107b (20%). La LCMS y NMR de protones fueron consistentes con la estructura.

Los compuestos 107a y 107b se trataron en las mismas condiciones que para los compuestos 97a-d (Ejemplo 47), para dar los compuestos 108a y 108b con un rendimiento del 40-60%. La LCMS y NMR de protones fueron consistentes con la estructura.

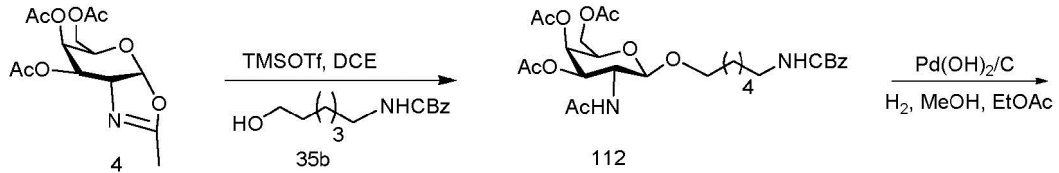
Los compuestos 108a (60%) y 108b (40%) se trataron en las mismas condiciones que para los compuestos 100a-d (Ejemplo 47), para dar los compuestos 109a y 109b con rendimientos de >80%. La LCMS y RMN de

protones fueron consistentes con la estructura.

El Compuesto 109a se trató en las mismas condiciones que para los compuestos 101a-d (Ejemplo 47), para dar el Compuesto 110a con un rendimiento del 30-60%. La LCMS y NMR de protones fueron consistentes con la estructura. Alternativamente, el Compuesto 110b puede prepararse de manera similar comenzando con el Compuesto 109b.

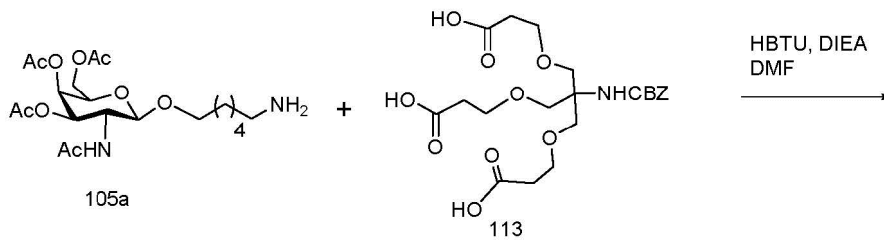
Ejemplo 48: Preparación de Oligonucleótido 119 que comprende GalNAc₃-7

10



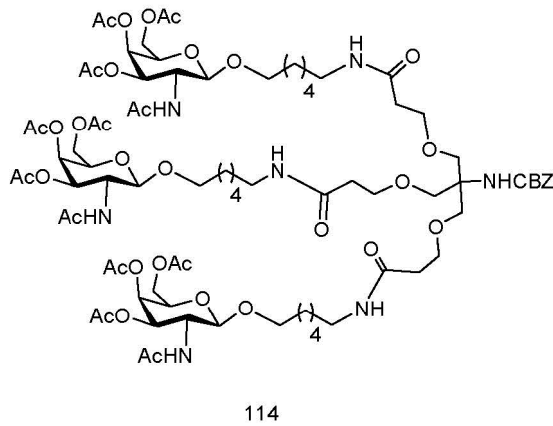
15

20



25

30



40

45

50

55

60

65

5

10

15

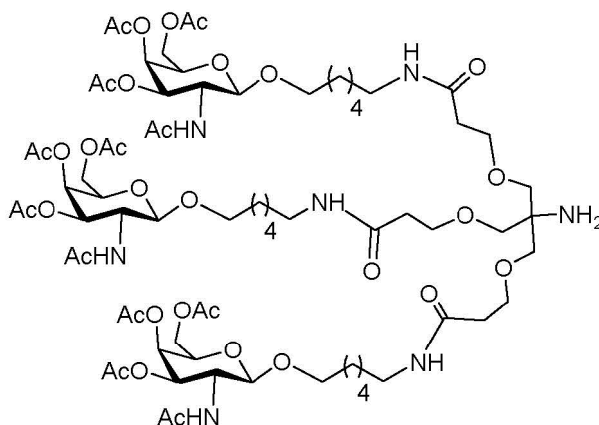
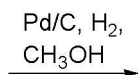
20

25

30

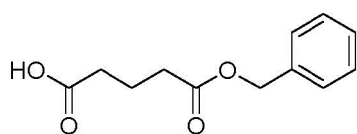
35

114

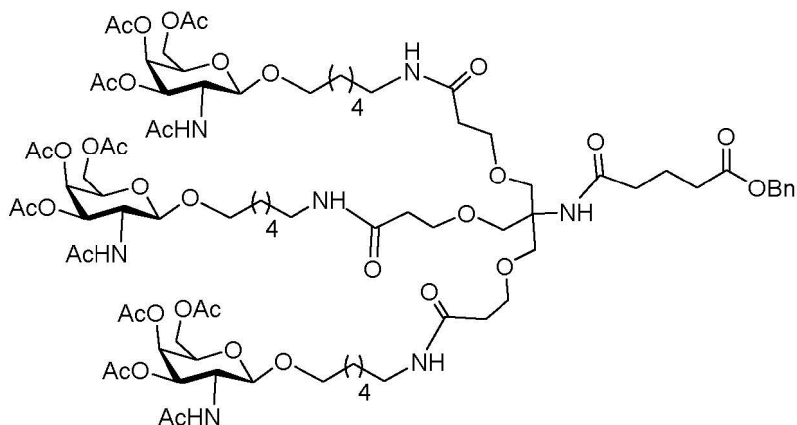


115

HBTU, DIEA, DMF



83a



116

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

40

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

45

Se disolvieron el compuesto 113 (1,25 g, 2,7 mmol), HBTU (3,2 g, 8,4 mmol) y DIEA (2,8 ml, 16,2 mmol) en DMF anhidro (17 ml) y la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos. A esto se añadió una solución del Compuesto 105a (3,77 g, 8,4 mmol) en DMF anhidro (20 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El solvente se eliminó a presión reducida para obtener un aceite. El residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml) y se lavó con solución de NaHCO_3 acuosa saturada (100 ml) y salmuera (100 ml). La fase orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se eluyó con MeOH del 10 al 20% en diclorometano para producir el Compuesto 114 (1,45 g, 30%). La estructura se confirmó por LCMS y análisis $^1\text{H NMR}$.

50

55

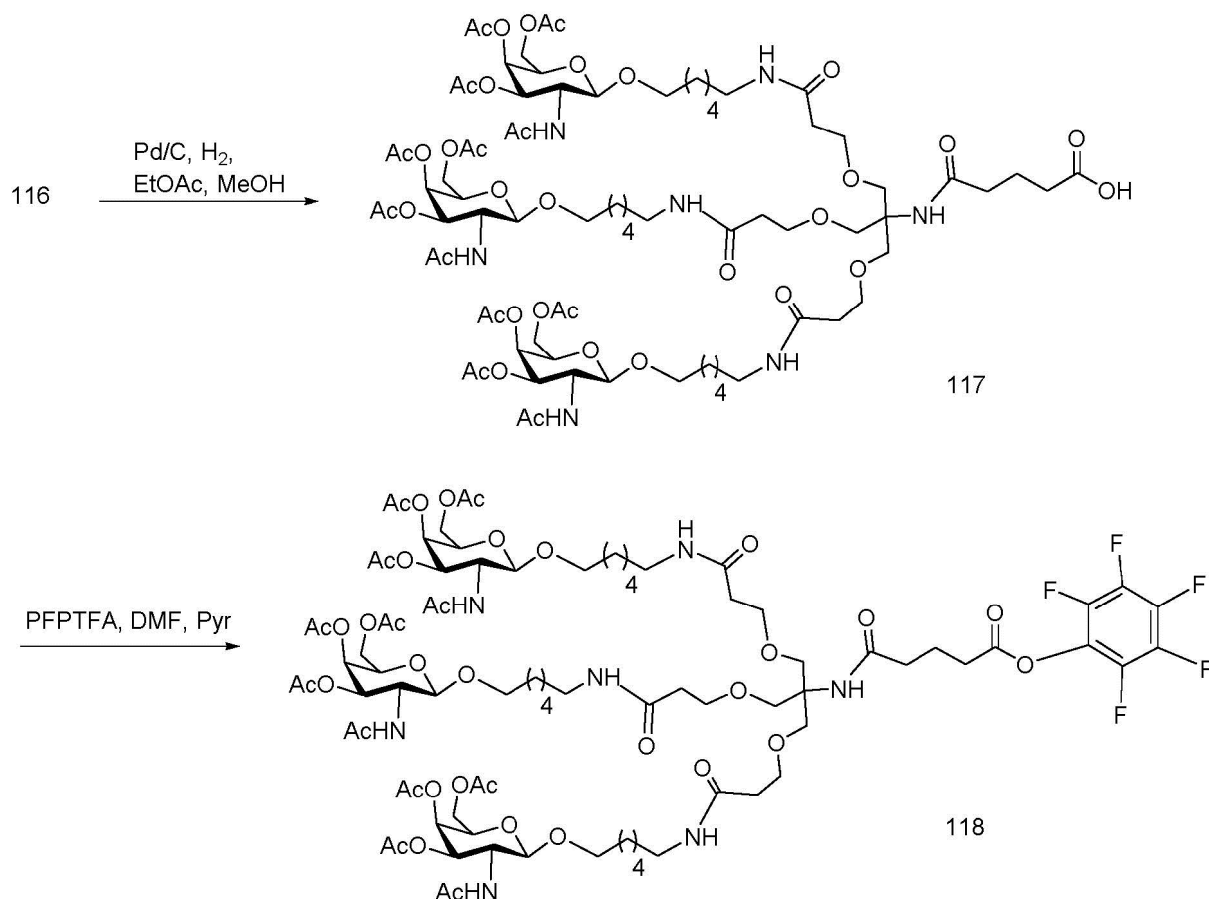
El compuesto 114 (1,43 g, 0,8 mmol) se disolvió en metanol/acetato de etilo 1:1 (4 ml/4 ml). Se añadió paladio sobre carbono (húmedo, 0,14 g). La mezcla de la reacción se enjuagó con hidrógeno y se agitó a temperatura ambiente bajo hidrógeno durante 12 h. La mezcla de la reacción se filtró a través de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

60

Se disolvieron el compuesto 83a (0,17 g, 0,75 mmol), HBTU (0,31 g, 0,83 mmol) y DIEA (0,26 ml, 1,5 mmol) en DMF anhidro (5 ml) y la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos. A esto se añadió una solución del Compuesto 115 (1,22 g, 0,75 mmol) en DMF anhidro y la reacción se agitó a temperatura

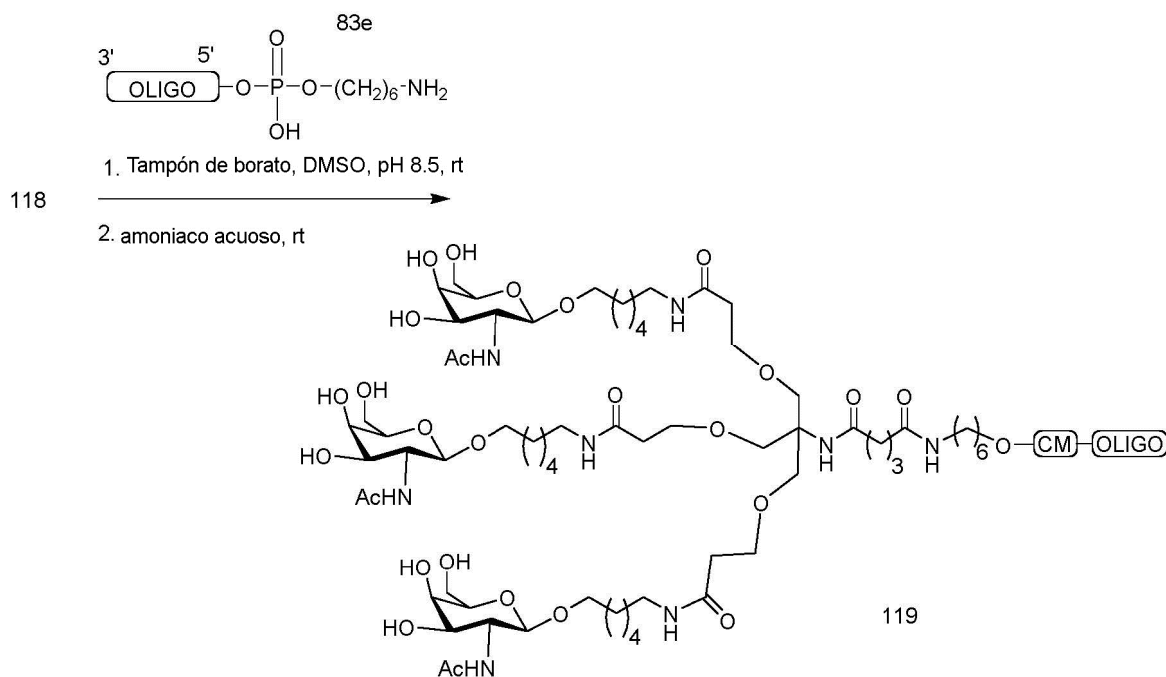
65

ambiente durante 6 h. El solvente se eliminó a presión reducida y el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 . La capa orgánica se lavó con solución de NaHCO_3 acuosa saturada y salmuera y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se filtró. La capa orgánica se concentró hasta la sequedad y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se eluyó con MeOH del 3 al 15% en diclorometano para producir el Compuesto 116 (0,84 g, 61%). La estructura se confirmó por LC MS y análisis ^1H NMR.



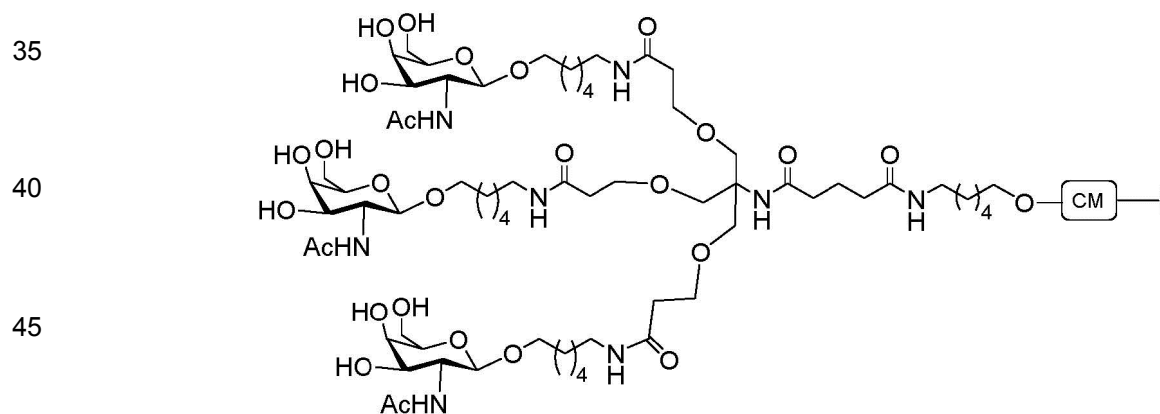
Se disolvió el compuesto 116 (0,74 g, 0,4 mmol) en metanol/acetato de etilo 1:1 (5 ml/5 ml). Se añadió paladio sobre carbono (húmedo, 0,074 g). La mezcla de la reacción se enjuagó con hidrógeno y se agitó a temperatura ambiente bajo hidrógeno durante 12 h. La mezcla de la reacción se filtró a través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

Se disolvió el compuesto 117 (0,63 g, 0,36 mmol) en DMF anhidro (3 ml). A esta solución se le añadieron N,N-diisopropilamina (70 μl , 0,4 mmol) y trifluoro acetato de pentafluorofenilo (72 μl , 0,42 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y se vertió en una solución de NaHCO_3 acuosa saturada. La mezcla se extrajo con diclorometano, se lavó con salmuera y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. La solución de diclorometano se concentró hasta la sequedad y se purificó con cromatografía en columna de gel de sílice y se eluyó con del 5 al 10% de MeOH en diclorometano para producir el compuesto 118 (0,51 g, 79%). La estructura se confirmó por LCMS y ^1H y ^{19}F NMR.

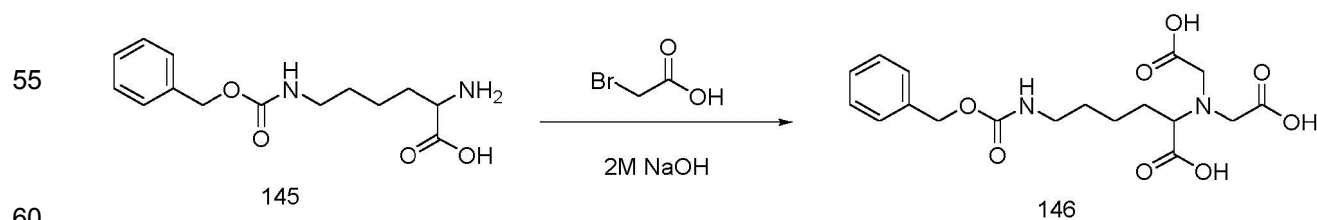


El Compuesto oligomérico 119, que comprende un grupo conjugado GalNAc₃-7, se preparó usando los procedimientos generales ilustrados en el Ejemplo 46. La parte del grupo GalNAc₃ del grupo conjugado GalNAc₃-7 (GalNAc₃-7_a) puede combinarse con cualquier fracción escindible para proporcionar una variedad de grupos conjugados. En ciertas realizaciones, la fracción escindible es -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-.

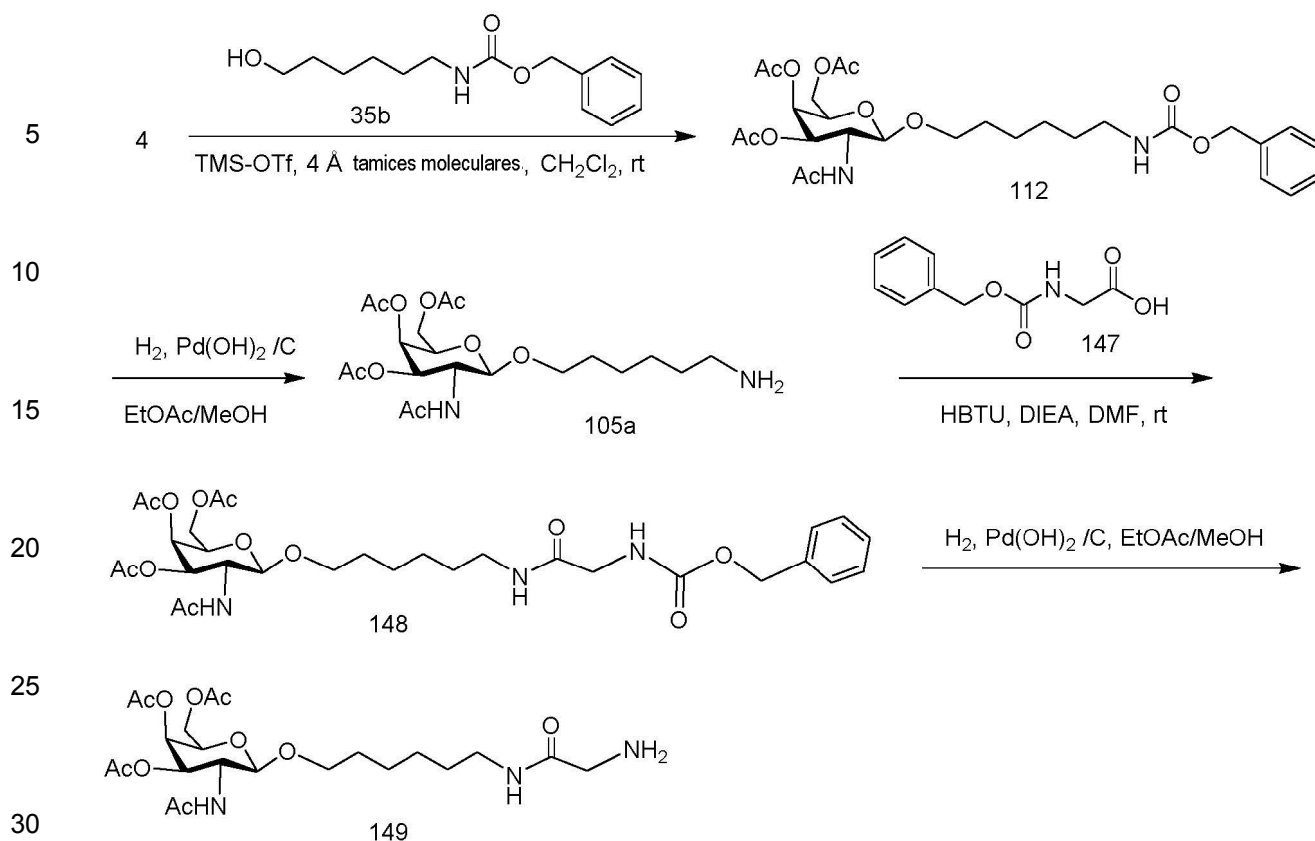
A continuación se muestra la estructura de GalNAc₃-7 (GalNAc₃-7_a-CM-):



Ejemplo 51: Preparación del oligonucleótido 155 que comprende GalNAc₃-6



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

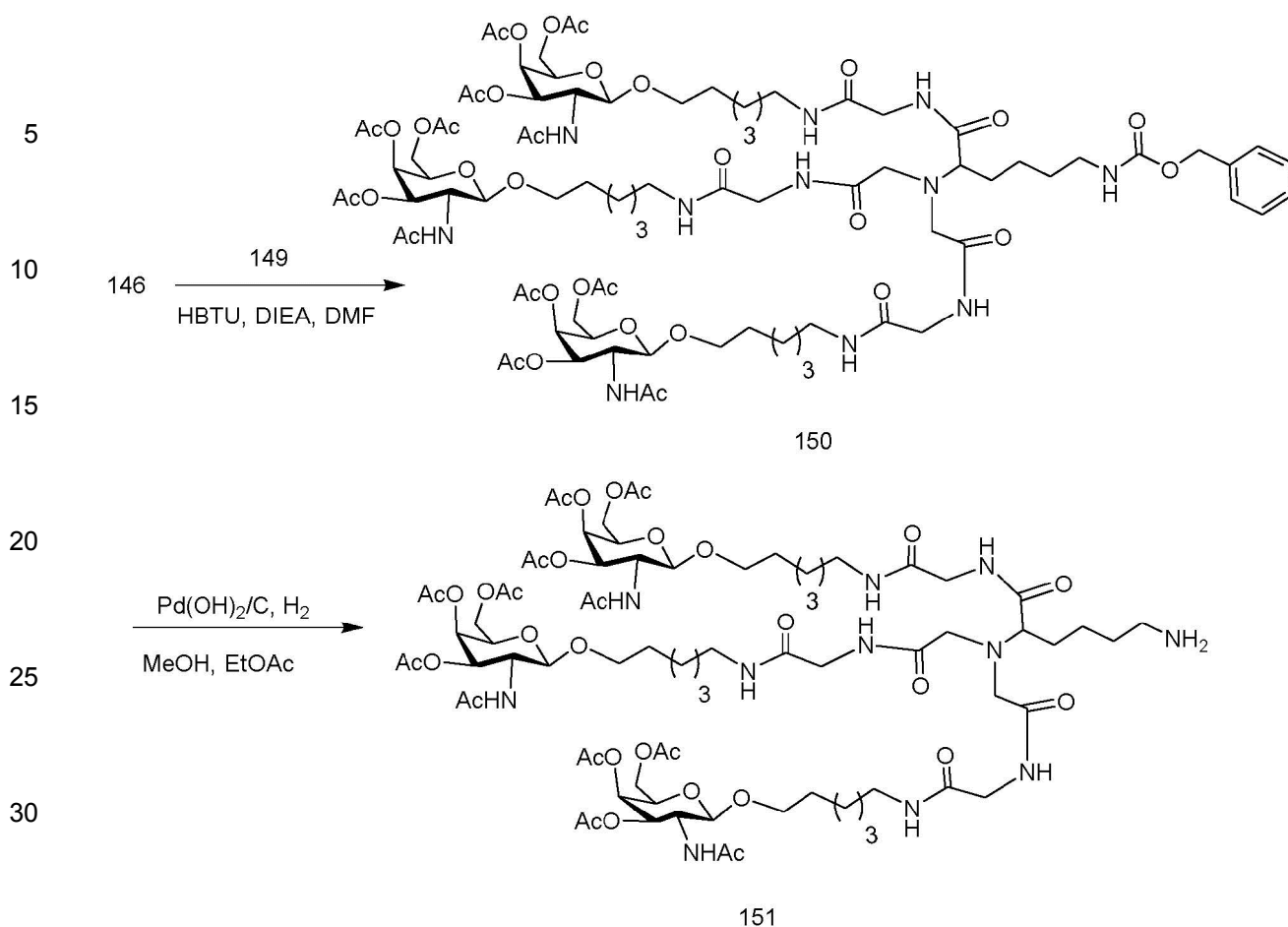


Se disolvieron el compuesto 4 (15 g, 45,55 mmol) y el compuesto 35b (14,3 gramos, 57 mmol) en CH₂Cl₂ (200 ml). Se añadieron tamices moleculares activados (4 Å, 2 g, en polvo), y la reacción se dejó agitar durante 30 minutos bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió TMS-OTf (4,1 ml, 22,77 mmol) y la reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. Tras finalizar, la reacción se inactivó vertiéndola en solución de NaHCO₃ acuosa saturada (500 ml) y hielo picado (~150 g). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta un aceite naranja a presión reducida. El material bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se eluyó con MeOH al 2-10% en CH₂Cl₂ para producir el Compuesto 112 (16,53 g, 63%). La LCMS y ¹H NMR fueron consistentes con el compuesto esperado.

Se disolvió el compuesto 112 (4,27 g, 7,35 mmol) en MeOH/EtOAc 1:1 (40 ml). La mezcla de la reacción se purgó burbujando una corriente de argón a través de la solución durante 15 minutos. Se añadió catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio sobre carbono, 400 mg), y se burbujó gas de hidrógeno a través de la solución durante 30 minutos. Una vez completada (TLC MeOH al 10% en CH₂Cl₂ y LCMS), el catalizador se eliminó por filtración a través de una almohadilla de celite. El filtrado se concentró por evaporación rotatoria, y se secó brevemente a vacío alto para producir el Compuesto 105a (3,28 g). La LCMS y ¹H NMR fueron consistentes con el producto deseado.

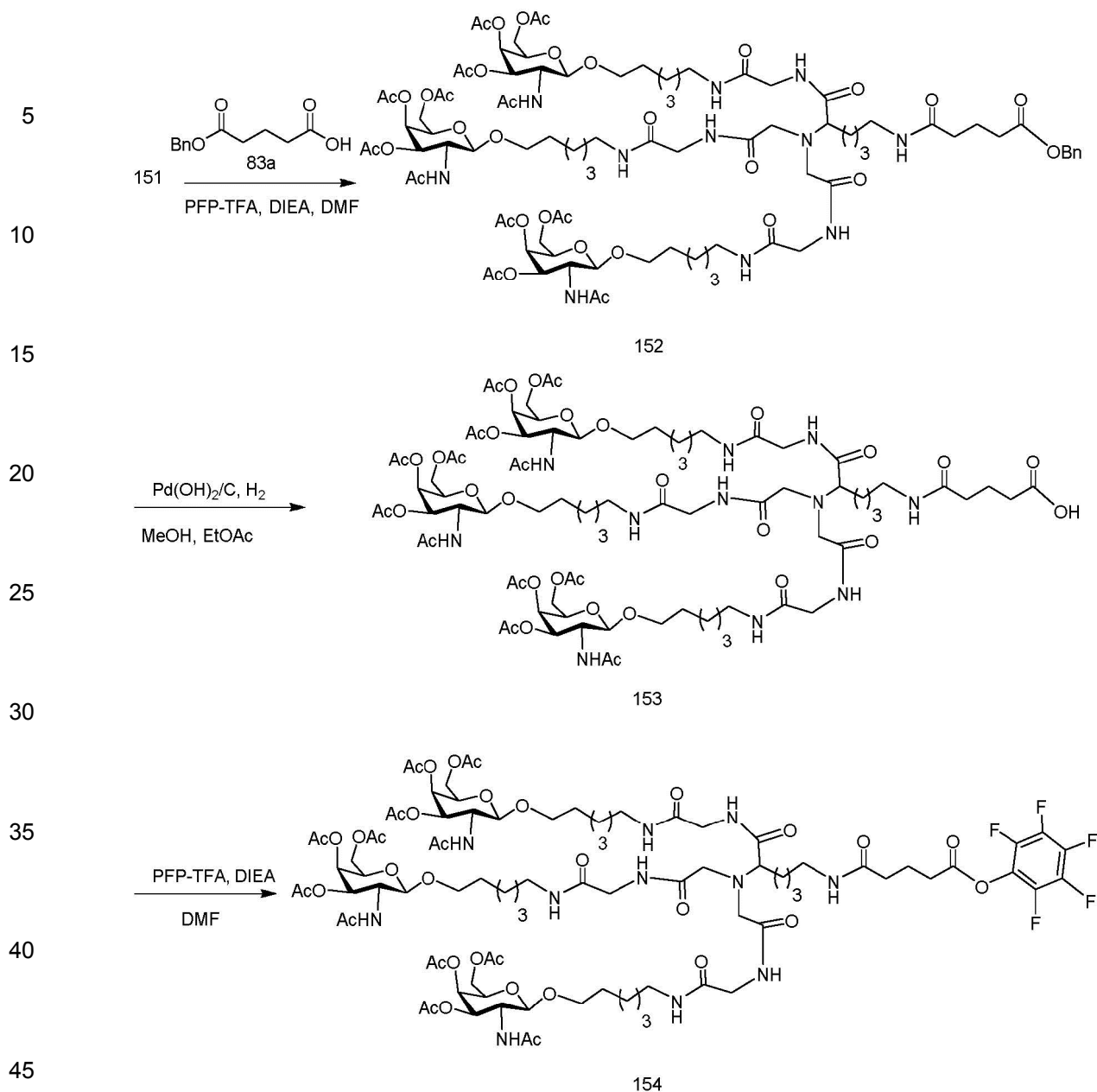
Se disolvió el compuesto 147 (2,31 g, 11 mmol) en DMF anhidro (100 ml). Se añadió N,N-diisopropiletilamina (DIEA, 3,9 ml, 22 mmol), seguido de HBTU (4 g, 10,5 mmol). La mezcla de la reacción se dejó agitar durante ~15 minutos bajo nitrógeno. A esto se añadió una solución del compuesto 105a (3,3 g, 7,4 mmol) en DMF seco y se agitó durante 2 h bajo atmósfera de nitrógeno. La reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. Se separó la fase orgánica, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró hasta un jarabe de naranja. El material bruto se purificó por cromatografía en columna de MeOH al 2-5% en CH₂Cl₂ para producir el Compuesto 148 (3,44 g, 73%). La LCMS y ¹H NMR fueron consistentes con el producto esperado.

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



Se disolvió el compuesto 146 (0,68 g, 1,73 mmol) en DMF seco (20 ml). A esto se le añadieron DIEA (450 μl , 2,6 mmol, 1,5 equivalentes) y HBTU (1,96 g, 0,5,2 mmol). La mezcla de la reacción se dejó agitar durante 15 minutos a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se añadió una solución del compuesto 149 (2,6 g) en DMF anhidro (10 ml). El pH de la reacción se ajustó a pH = 9-10 mediante la adición de DIEA (si era necesario). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 2 h. Una vez completada, la reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado acuoso, seguido de salmuera. Se separó la fase orgánica, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se eluyó con MeOH al 2-10% en CH_2Cl_2 para producir el Compuesto 150 (0,62 g, 20%). La LCMS y ^1H NMR fueron consistentes con el producto deseado.

Se disolvió el compuesto 150 (0,62 g) en MeOH/EtOAc 1:1 (5 l). La mezcla de la reacción se purgó burbujeando una corriente de argón a través de la solución durante 15 minutos. Se añadió catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio sobre carbono) (60 mg). Se burbujeó gas de hidrógeno a través de la solución durante 30 minutos. Una vez completada (TLC MeOH al 10% en DCM y LCMS), el catalizador se eliminó por filtración (filtro de teflón con punta de jeringuilla, 0,45 μm). El filtrado se concentró por evaporación rotatoria, y se secó brevemente a vacío alto para producir el Compuesto 151 (0,57 g). La LCMS fue consistente con el producto deseado. El producto se disolvió en 4 ml de DMF seco y se usó inmediatamente en el paso siguiente.

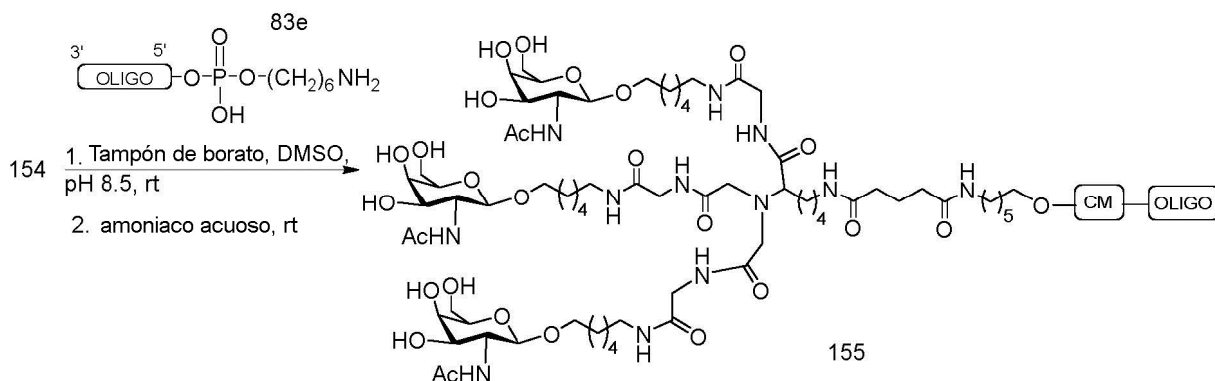


Se disolvió el compuesto 83a (0,11 g, 0,33 mmol) en DMF anhidro (5 ml) y se añadieron N,N-diisopropiletilamina (75 μ l, 1 mmol) y PFP-TFA (90 μ l, 0,76 mmol). La mezcla de la reacción se volvió magenta tras el contacto y gradualmente se volvió naranja durante los 30 minutos siguientes. El progreso de la reacción se monitorizó por TLC y LCMS. Una vez completada (formación del éster PFP), se añadió una solución del compuesto 151 (0,57 g, 0,33 mmol) en DMF. El pH de la reacción se ajustó a pH = 9-10 mediante la adición de N,N-diisopropiletilamina (si fue necesario). La mezcla de la reacción se agitó bajo nitrógeno durante ~ 30 min. Una vez completado, se eliminó la mayoría del solvente a presión reducida. El residuo se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, seguido de salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta un jarabe naranja. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH al 2-10% en CH₂Cl₂) para producir el Compuesto 152 (0,35 g, 55%). La LCMS y ¹H NMR fueron consistentes con el producto deseado.

Se disolvió el compuesto 152 (0,35 g, 0,182 mmol) se disolvió en MeOH/EtOAc 1:1 (10 ml). La mezcla de la reacción se purgó burbujeando una corriente de argón a través de la solución durante 15 minutos. Se añadió catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio sobre carbono) (35 mg). Se burbujeó gas de hidrógeno a través de la solución durante 30 minutos. Una vez completada (TLC MeOH al 10% en DCM y LCMS), el catalizador se eliminó por filtración (filtro de teflón con punta de jeringuilla, 0,45 μ m). El filtrado se concentró por evaporación rotatoria y se secó brevemente a vacío alto para dar el Compuesto 153 (0,33 g, cuantitativo). La LCMS fue consistente con el

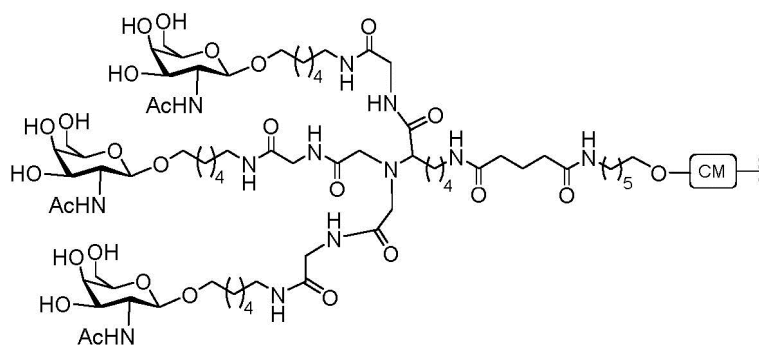
producto deseado.

Se disolvió el compuesto 153 (0,33 g, 0,18 mmol) en DMF anhidro (5 ml) con agitación bajo nitrógeno. A esto se añadieron N,N-diisopropiletilamina (65 μ l, 0,37 mmol) y PFP-TFA (35 μ l, 0,28 mmol). La mezcla de la reacción se agitó bajo nitrógeno durante ~30 min. La mezcla de la reacción se volvió magenta tras el contacto y se volvió gradualmente naranja. El pH de la mezcla de la reacción se mantuvo a pH = 9-10 añadiendo más N,N-diisopropiletilamina. El progreso de la reacción se monitorizó por TLC y LCMS. Una vez completada, se eliminó la mayoría del solvente a presión reducida. El residuo se diluyó con CH_2Cl_2 (50 ml) y se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado, seguido de salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO_7 , se filtró y se concentró hasta un jarabe naranja. El residuo se purificó por cromatografía en columna y se eluyó con MeOH al 2-10% en CH_2Cl_2 para producir el Compuesto 154 (0,29 g, 79%). La LCMS y ^1H NMR fueron consistentes con el producto deseado.



El Compuesto oligomérico 155, que comprende un grupo conjugado GalNAc₃-6, se preparó usando los procedimientos generales ilustrados en el Ejemplo 46. La parte del grupo GalNAc₃ del grupo conjugado GalNAc₃-6 (GalNAc₃-6_a) puede combinarse con cualquier fracción escindible para proporcionar una variedad de grupos conjugados. En ciertas realizaciones, la fracción escindible -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-.

A continuación se muestra la estructura de GalNAc₃-6 (GalNAc₃-6_a-CM-):



50 **Ejemplo 56: Estudio dependiente de la dosis de oligonucleótidos que comprenden o un grupo conjugado 3' o uno 5' (comparación de GalNAc₃-1, 2, 3, 5, 6, 7 y 10) dirigido a SRB-1 *in vivo***

Los oligonucleótidos enumerados a continuación se probaron en un estudio dependiente de la dosis para la inhibición antisentido de SRB-1 en ratones. Se incluyó ISIS 353382 no conjugado como un estándar. Cada uno de los varios grupos conjugados GalNAc₃ se unió en el extremo terminal 5' del oligonucleótido respectivo por un nucleósido 2'-desoxiadenosina enlazado (fracción escindible) excepto para ISIS 655861 que tenía un grupo conjugado GalNAc₃ unido en el extremo terminal 3'.

Tabla 42

ASO modificados dirigidos a SRB-1				
ASO	Secuencia (5' a 3')	Motivo	Conjugado	SEQ ID NO.
5 ISIS 353382 (original)	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	no conjugado	829
10 ISIS 655861	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} \text{-GalNAc}_3\text{-1}_a$	5/10/5	GalNAc₃-1	830
15 ISIS 664507	GalNAc₃-2_a- $^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc₃-2	831
20 ISIS 661161	GalNAc₃-3_a-^oA_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc₃-3	831
25 ISIS 666224	GalNAc₃-5_a- $^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc₃-5	831
30 ISIS 666961	GalNAc₃-6_a- $^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc₃-6	831
35 ISIS 666981	GalNAc₃-7_a- $^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc₃-7	831
40 ISIS 666881	GalNAc₃-10_a- $^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc₃ - 10	831

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

La estructura de GalNAc₃-1_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 9. La estructura de GalNAc₃-2_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 37. La estructura de GalNAc₃-3_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 39. La estructura de GalNAc₃-5_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 49. La estructura de GalNAc₃-6_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 51. La estructura de GalNAc₃-7_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 48. La estructura de GalNAc₃-10_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 46.

Tratamiento

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

Como se ilustra en la Tabla 43, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido disminuyó los niveles de ARNm de SRB-1 de una manera dependiente de la dosis. De hecho, los oligonucleótidos antisentido conjugados

mostraron una mejora sustancial en la potencia en comparación con el oligonucleótido antisentido no conjugado (ISIS 353382). Los oligonucleótidos antisentido 5' conjugados mostraron un ligero aumento en la potencia en comparación con el oligonucleótido antisentido conjugado 3'.

5

Tabla 43

Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de SRB-1 (% de Solución salina)	Conjugado
Solución salina	n/a	100.0	
353382	3	96.0	ninguno
	10	73.1	
	30	36.1	
655861	0.5	99.4	GalNac ₃ -1 (3')
	1.5	81.2	
	5	33.9	
	15	15.2	
664507	0.5	102.0	GalNac ₃ -2 (5')
	1.5	73.2	
	5	31.3	
	15	10.8	
661161	0.5	90.7	GalNac ₃ -3 (5')
	1.5	67.6	
	5	24.3	
	15	11.5	
666224	0.5	96.1	GalNac ₃ -5 (5')
	1.5	61.6	
	5	25.6	
	15	11.7	
666961	0.5	85.5	GalNac ₃ -6 (5')
	1.5	56.3	
	5	34.2	
	15	13.1	
666981	0.5	84.7	GalNac ₃ -7 (5')
	1.5	59.9	
	5	24.9	
	15	8.5	
666881	0.5	100.0	GalNac ₃ -10 (5')
	1.5	65.8	
	5	26.0	
	15	13.0	

10

15

20

25

30

35

40

45

50

Los niveles de transaminasas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST), en suero, se midieron con respecto a los ratones inyectados con solución salina usando protocolos estándar. También se evaluaron la bilirrubina total y BUN. El cambio en los pesos corporales se evaluó sin un cambio significativo del grupo de solución salina. Los valores de ALT, AST, bilirrubina total y BUN se muestran en la Tabla 44 a continuación.

55

Tabla 44

Nº de ISIS	Dosificación mg/kg	ALT	AST	Bilirrubina Total	BUN	Conjugado
Solución salina		26	57	0.2	27	
353382	3	25	92	0.2	27	ninguno
	10	23	40	0.2	25	
	30	29	54	0.1	28	

60

65

(continuación)

Nº de ISIS	Dosificación mg/kg	ALT	AST	Bilirrubina Total	BUN	Conjugado
655861	0.5	25	71	0.2	34	GalNac ₃ -1 (3')
	1.5	28	60	0.2	26	
	5	26	63	0.2	28	
	15	25	61	0.2	28	
664507	0.5	25	62	0.2	25	GalNac ₃ -2 (5')
	1.5	24	49	0.2	26	
	5	21	50	0.2	26	
	15	59	84	0.1	22	
661161	0.5	20	42	0.2	29	GalNac ₃ -3 (5')
	1.5 g	37	74	0.2	25	
	5 g	28	61	0.2	29	
	15	21	41	0.2	25	
666224	0.5	34	48	0.2	21	GalNac ₃ -5 (5')
	1.5	23	46	0.2	26	
	5	24	47	0.2	23	
	15	32	49	0.1	26	
666961	0.5	17	63	0.2	26	GalNac ₃ -6 (5')
	1.5	23	68	0.2	26	
	5	25	66	0.2	26	
	15	29	107	0.2	28	
666981	0.5	24	48	0.2	26	GalNac ₃ -7 (5')
	1.5	30	55	0.2	24	
	5	46	74	0.1	24	
	15	29	58	0.1	26	
666881	0.5	20	65	0.2	27	GalNac ₃ -10 (5')
	1.5	23	59	0.2	24	
	5	45	70	0.2	26	
	15	21	57	0.2	24	

Ejemplo 80: Inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a Antitripsina Alfa-1 (A1AT) que comprenden un Conjugado GalNac₃

Se probaron los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 72 a continuación en un estudio para determinar la inhibición dependiente de la dosis de A1AT en ratones.

Tabla 72

ASO modificados dirigidos a A1AT				
Nº de ISIS	Secuencias (5' a 3')	Grupo de GalNac ₃	CM	SEQ ID No.
476366	A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	n/a	n/a	838
656326	A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _{eo} A _{do} -GalNac ₃ -1 _a	GalNac ₃ -1a	A _d	839
678381	GalNac ₃ -3 _a -o'-A _{do} A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNac ₃ -3a	A _d	840

(continuación)

ASO modificados dirigidos a A1AT				
Nº de ISIS	Secuencias (5' a 3')	Grupo de GalNAC ₃	CM	SEQ ID No.
678382	GalNAC ₃ -7 _a -o' A _{ds} o' A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAC ₃ -7a	A _d	840
678383	GalNAC ₃ -10 _a -o' A _{ds} o' A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAC ₃ -10a	A _d	840
678384	GalNAC ₃ -13 _a -o' A _{ds} o' A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAC ₃ -13a	A _d	840

La estructura de GalNAC₃-1_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 9, GalNAC₃-3_a se ha mostrado en el Ejemplo 39, GalNAC₃-7_a se ha mostrado en el Ejemplo 48, GalNAC₃-10_a se ha mostrado en el Ejemplo 46, y GalNAC₃-13_a se ha mostrado en el Ejemplo 62.

Tratamiento

Se inyectó a ratones C57BL/6 macho de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) por vía subcutánea una vez por semana a una dosificación mostrada a continuación, para un total de tres dosis, con un oligonucleótido enumerado en la Tabla 72 o con PBS. Cada grupo de tratamiento consistía de 4 animales. Los ratones fueron sacrificados 72 horas después de la administración final. Los niveles de ARNm hepático de A1AT se determinaron usando PCR en tiempo real y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con protocolos estándar. Los niveles de proteína en plasma de A1AT se determinaron usando el ELISA de alfa 1-antitripsina de ratón (Nº de catálogo 41-A1AMS-EOI, Alpco, Salem, NH). Los resultados a continuación se presentan como el porcentaje medio de ARNm hepático de A1AT y los niveles de proteínas en plasma para cada grupo de tratamiento, normalizado para el control de PBS.

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

Tabla 73

Niveles de ARNm hepático y proteína en plasma de A1AT					
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm hepático de A1AT (% PBS)	Proteína en plasma de A1AT (% PBS) _r	Grupo de GalNAC ₃	CM
PBS	n/a	100	100	n/a	n/a
476366	5	86	78	n/a	n/a
	15	73	61		
	45	30	38		
656326	0.6	99	90	GalNAC ₃ -1a	A _d
	2	61	70		
	6	15	30		
	18	6	10		
678381	0.6	105	90	GalNAC ₃ -3a	A _d
	2	53	60		
	6	16	20		
	18	7	13		
678382	0.6	90	79	GalNAC ₃ -7a	A _d
	2	49	57		
	6	21	27		
	18	8	11		

(continuación)

Niveles de ARNm hepático y proteína en plasma de A1AT						
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm hepático de A1AT (% PBS)	Proteína en plasma de A1AT (% PBS) _r	Grupo de GalNAC ₃	CM	
5 10	678383	0.6	94	84	GalNAC ₃ -10a	A _d
		2	44	53		
		6	13	24		
		18	6	10		
15	678384	0.6	106	91	GalNAC ₃ -13a	A _d
		2	65	59		
		6	26	31		
		18	11	15		

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

Tabla 74

Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dl)	Peso corporal (% de valor de referencia)	Peso del hígado (Rel % BW)	Peso del riñón (Rel % BW)	Peso del bazo (Rel % BW)	
PBS	n/a	25	51	37	119	100	100	100	
30	476366	5	34	68	35	116	91	98	106
		15	37	74	30	122	92	101	128
		45	30	47	31	118	99	108	123
		0.6	29	57	40	123	100	103	119
35	656326	2	36	75	39	114	98	111	106
		6	32	67	39	125	99	97	122
		18	46	77	36	116	102	109	101
40	678381	0.6	26	57	32	117	93	109	110
		2	26	52	33	121	96	106	125
		6	40	78	32	124	92	106	126
		18	31	54	28	118	94	103	120
45	678382	0.6	26	42	35	114	100	103	103
		2	25	50	31	117	91	104	117
		6	30	79	29	117	89	102	107
		18	65	112	31	120	89	104	113
50	678383	0.6	30	67	38	121	91	100	123
		2	33	53	33	118	98	102	121
		6	32	63	32	117	97	105	105
		18	36	68	31	118	99	103	108
55	678384	0.6	36	63	31	118	98	103	98
		2	32	61	32	119	93	102	114
		6	34	69	34	122	100	100	96
		18	28	54	30	117	98	101	104

Ejemplo 81: Duración de la acción *in vivo* de oligonucleótidos dirigidos a A1AT que comprenden un grupo GalNAC₃

Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 72 se probaron en un estudio de dosis individual para la duración de la acción en ratones.

Tratamiento

Se inyectó a ratones C57BL/6 macho de seis semanas de edad por vía subcutánea una vez con un oligonucleótido enumerado en la Tabla 72 o con PBS. Cada grupo de tratamiento consistía de 4 animales. Se extrajo sangre el día antes de la dosificación para determinar el valor de referencia y a los 5, 12, 19 y 25 días después de la dosis. Los niveles de proteína de A1AT en plasma se midieron mediante ELISA (ver el Ejemplo 80). Los resultados a continuación se presentan como el porcentaje medio de los niveles de proteína de A1AT en plasma para cada grupo de tratamiento, normalizado a los niveles de referencia. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un conjugado GalNAc fueron más potentes y tuvieron una duración de acción más larga que el original que carecía de un conjugado GalNAc (ISIS 476366). Además, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado 5'-GalNAc (ISIS 678381, 678382, 678383 y 678384) fueron generalmente incluso más potentes con una duración de acción incluso más larga que el oligonucleótido que comprendía un conjugado 3'-GalNAc (ISIS 656326).

Tabla 75

Niveles de proteína de A1AT en plasma en ratones						
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	Punto temporal (días después de la dosis)	A1AT (% del valor de referencia)	Grupo GalNAc ₃	CM	
5 20	PBS	n/a	5	93	n/a	n/a
			12	93		
			19	90		
			25	97		
25	476366	100	5	38	n/a	n/a
			12	46		
			19	62		
			25	77		
30	656326	18	5	33	GalNAc ₃ -1a	A _d
			12	36		
			19	51		
			25	72		
35	678381	18	5	21	GalNAc ₃ -3a	A _d
			12	21		
			19	35		
			25	48		
40	678382	18	5	21	GalNAc ₃ -7a	A _d
			12	21		
			19	39		
			25	60		
45	678383	18	5	24	GalNAc ₃ -10a	A _d
			12	21		
			19	45		
			25	73		
50	678384	18	5	29	GalNAc ₃ -13a	A _d
			12	34		
			19	57		
			25	76		

Ejemplo 82: Inhibición antisentido *in vitro* por oligonucleótidos dirigidos a SRB-1 que comprenden un conjugado GalNAc₃

Se sembraron hepatocitos de hígado de ratón primarios en placas de 96 pocillos a 15.000 células/pocillo 2 horas antes del tratamiento. Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 76 se añadieron a 2, 10, 50 o 250 nM en medio E de Williams y las células se incubaron durante la noche a 37° C en 5% de CO₂. Las células se lisaron 16 horas después de la adición de oligonucleótidos, y el ARN total se purificó usando RNease 3000 Bio Robot (Qiagen). Los niveles de ARNm de SRB-1 se determinaron usando PCR en tiempo real y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con protocolos estándar. Los valores de IC₅₀ se

determinaron usando el software Prism 4 (GraphPad). Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden una variedad de grupos conjugados de GalNAc diferentes y una variedad de fracciones escindibles diferentes son significativamente más potentes en un experimento de captación libre *in vitro* que los oligonucleótidos originales que carecen de un grupo conjugado de GalNAc (ISIS 353382 y 666841).

5

Tabla 76

Inhibición de la expresión de SRB-1 <i>in vitro</i>						
Nº de ISIS	Secuencia (5' a 3')	Enlaces	Grupo de GalNAc	CM	IC ₅₀	SEQ ID No:
353382	G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	n/a	n/a	250	829
655861	G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _{eo} A_{do}' - GalNAc₃-1_a	PS	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	40	830
661161	GalNAc₃-3_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -3 _a	A _d	40	831
661162	GalNAc₃-3_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{eo} T _{eo} T _{eo} mC _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{eo} mC _{eo} mC _{es} T _{es} T _e	PO/PS	GalNAc ₃ -3 _a	A _d	8	831
664078	G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _{eo} A_{do}' - GalNAc₃-9_a	PS	GalNAc ₃ -9 _a	A _d	20	830
665001	GalNAc₃-8_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} - A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -8 _a	A _d	70	831
666224	GalNAc₃-5_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -5 _a	A _d	80	831
666841	G _{es} mC _{eo} T _{eo} T _{eo} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{eo} mC _{eo} mC _{es} T _{es} T _e	PO/PS	n/a	n/a	>250	829
666881	GalNAc₃-10_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -10 _a	A _d	30	831
666904	GalNAc₃-3_{a-o'} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -3 _a	PO	9	829
666924	GalNAc₃-3_{a-o'} T _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -3 _a	T _d	15	834

65

(continuación)

Inhibición de la expresión de SRB-1 <i>in vitro</i>						
Nº de ISIS	Secuencia (5' a 3')	Enlaces	Grupo de GalNAc	CM	IC ₅₀	SEQ ID No:
666961	GalNAc₃-6_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -6 _a	A _d	150	831
666981	GalNAc₃-7_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -7 _a	A _d	20	831
670061	GalNAc₃-13_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -13 _a	A _d	30	831
670699	GalNAc₃-3_{a-o'} T _{do} G _{es} mC _{eo} T _{eo} T _{eo} mC _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{eo} mC _{eo} mC _{es} T _{es} T _e	PO/PS	GalNAc ₃ -3 _a	T _d	15	834
670700	GalNAc₃-3_{a-o'} A _{eo} G _{es} mC _{eo} T _{eo} T _{eo} mC _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{eo} mC _{eo} mC _{es} T _{es} T _e	PO/PS	GalNAc ₃ -3 _a	A _e	30	831
670701	GalNAc₃-3_{a-o'} T _{eo} G _{es} mC _{eo} T _{eo} T _{eo} mC _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{eo} mC _{eo} mC _{es} T _{es} T _e	PO/PS	GalNAc ₃ -3 _a	T _e	25	834
671144	GalNAc₃-12_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -12 _a	A _d	40	831
671165	GalNAc₃-13_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{eo} T _{eo} T _{eo} mC _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{eo} mC _{eo} mC _{es} T _{es} T _e	PO/PS	GalNAc ₃ -13 _a	A _d	8	831
671261	GalNAc₃-14_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -14 _a	A _d	>250	831
671262	GalNAc₃-15_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{es} T _{es} T _{es} mC _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} mC _{es} mC _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -15 _a	A _d	>250	831
673501	GalNAc₃-7_{a-o'} A _{do} G _{es} mC _{eo} T _{eo} T _{eo} mC _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{eo} mC _{eo} mC _{es} T _{es} T _e	PO/PS	GalNAc ₃ 7 _a	A _d	30	831

65

(continuación)

Inhibición de la expresión de SRB-1 <i>in vitro</i>						
Nº de ISIS	Secuencia (5' a 3')	Enlaces	Grupo de GalNAc	CM	IC ₅₀	SEQ ID No:
673502	GalNAc₃-10_{a-o'} A _{do} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	PO/PS	GalNAc ₃ -10 _a	A _d	8	831
675441	GalNAc₃-17_{a-o'} A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -17 _a	A _d	30	831
675442	GalNAc₃-18_{a-o'} A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -18 _a	A _d	20	831
677841	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} A _{do'} - GalNAc₃-19_a	PS	GalNAc ₃ -19 _a	A _d	40	830
677842	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} A _{do'} - GalNAc₃-20_a	PS	GalNAc ₃ -20 _a	A _d	30	830
677843	GalNAc₃-23_{a-o'} A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	PS	GalNAc ₃ -23 _a	A _d	40	831

La estructura de GalNAc₃-1_a, se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 9, GalNAc₃-1_a se ha mostrado en el Ejemplo 39, GalNAc₃-5_a se ha mostrado en el Ejemplo 49, GalNAc₃-6_a se ha mostrado en el Ejemplo 51, GalNAc₃-7_a se ha mostrado en el Ejemplo 48, GalNAc₃-8_a se ha mostrado en el Ejemplo 47, GalNAc₃-9_a se ha mostrado en el Ejemplo 52, GalNAc₃-10_a se ha mostrado en el Ejemplo 46, GalNAc₃-12_a se ha mostrado en el Ejemplo 61, GalNAc₃-13_a se ha mostrado en el Ejemplo 62, GalNAc₃-14_a se ha mostrado en el Ejemplo 63, GalNAc₃-15_a se ha mostrado en el Ejemplo 64, GalNAc₃-17_a, se ha mostrado en el Ejemplo 68, GalNAc₃-18_a se ha mostrado en el Ejemplo 69, GalNAc₃-19_a se ha mostrado en el Ejemplo 70, GalNAc₃-20_a, se ha mostrado en el Ejemplo 71, y GalNAc₃-23_a se ha mostrado en el Ejemplo 76.

Ejemplo 83: Inhibición antisentido *in vivo* por factor de direccionamiento de oligonucleótidos XI que comprende un clúster GalNAc3

Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 77 siguiente se probaron en un estudio para la inhibición dependiente de la dosis del Factor XI en ratones.

Tabla 77

Oligonucleótidos modificados dirigidos a Factor XI				
Nº de ISIS	Secuencia (5' a 3')	Grupo de GalNAc	CM	SEQ ID No.
404071	T _{es} G _{es} G _{es} T _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} A _{es} G _{es} G _e	n/a	n/a	832
656173	T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _{eo} A _{do'} - GalNAc₃-1_a	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	833

(continuación)

Oligonucleótidos modificados dirigidos a Factor XI				
Nº de ISIS	Secuencia (5' a 3')	Grupo de GalNac	CM	SEQ ID No.
663086	GalNac₃-3_a- o'A _{do} T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNac ₃ -3a	A _d	841
678347	GalNac₃-7_a- o'A _{do} T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNac ₃ -7a	A _d	841
678348	GalNac₃-10_a- o'A _{do} T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNac ₃ -10a	A _d	841
678349	GalNac₃-13_a- o'A _{do} T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNac ₃ -13a	A _d	841

La estructura de GalNac₃-1_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 9, GalNac₃-3_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 39, GalNac₃-7_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 48, GalNac₃-10_a se ha mostrado anteriormente 46, y GalNac₃-13_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 62.

Tratamiento

Se inyectó a cada uno de los ratones de seis a ocho semanas de edad por vía subcutánea una vez por semana a una dosificación mostrada a continuación, para un total de tres dosis, con un oligonucleótido enumerado a continuación o con PBS. Cada grupo de tratamiento consistía de 4 animales. Los ratones fueron sacrificados 72 horas después de la dosis final. Los niveles de ARNm del hígado del Factor XI se midieron usando PCR en tiempo real y se normalizaron a ciclofilina de acuerdo con protocolos estándar. También se midieron las transaminasas hepáticas, BUN y bilirrubina. Los resultados siguientes se presentan como el porcentaje medio para cada grupo de tratamiento, normalizado para el control de PBS.

Como se ilustra en la Tabla 78, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido disminuyó el ARNm hepático del Factor XI de manera dependiente de la dosis. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un conjugado GalNac fueron más potentes que el original que carecía de un conjugado GalNac (ISIS 404071). Además, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado 5'-GalNac (ISIS 663086, 678347, 678348 y 678349) fueron incluso más potentes que el oligonucleótido que comprendía un conjugado 3'-GalNac (ISIS 656173).

Tabla 78

Niveles de ARNm hepático del Factor XI, transaminasa hepática, BUN, y bilirrubina								
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de Factor XI (% de PBS)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dl)	Bilirrubina (mg/dl)	Grupo de GalNac ₃	SEQ ID No.
PBS	n/a	100	63	70	21	0.18	n/a	n/a
404071	3	65	41	58	21	0.15	n/a	832
	10	33	49	53	23	0.15		
	30	17	43	57	22	0.14		
656173	0.7	43	90	89	21	0.16	GalNac ₃ -1a	833
	2	9	36	58	26	0.17		
	6	3	50	63	25	0.15		
663086	0.7	33	91	169	25	0.16	GalNac ₃ -3a	841
	2	7	38	55	21	0.16		
	6	1	34	40	23	0.14		

(continuación)

Niveles de ARNm hepático del Factor XI, transaminasa hepática, BUN, y bilirrubina								
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de Factor XI (% de PBS)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dl)	Bilirrubina (mg/dl)	Grupo de GaNAC ₃	SEQ ID No.
	PBS	n/a	63	70	21	0.18	n/a	n/a
	0.7	35	28	49	20	0.14	GalNAC ₃ -7a	841
	2	10	180	149	21	0.18		
	6	1	44	76	19	0.15		
	0.7	39	43	54	21	0.16	GalNAC ₃ -10a	841
	2	5	38	55	22	0.17		
	6	2	25	38	20	0.14		
	0.7	34	39	46	20	0.16	GalNAC ₃ -13a	841
	2	8	43	63	21	0.14		
	6	2	28	41	20	0.14		

Ejemplo 84: Duración de la acción *in vivo* de oligonucleótidos dirigidos al Factor XI que comprenden un Conjugado GalNAC₃

Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 77 se probaron en un estudio de dosis individual para la duración de la acción en ratones.

Tratamiento

A cada uno de los ratones de seis a ocho semanas de edad se les inyectó por vía subcutánea una vez con un oligonucleótido enumerado en la Tabla 77 o con PBS. Cada grupo de tratamiento consistía de 4 animales. La sangre se extrajo mediante hemorragias en la cola el día antes de la dosificación para determinar el valor de referencia y a los 3, 10 y 17 días después de la dosis. Los niveles de proteína del Factor XI en plasma se midieron por ELISA usando captura de Factor XI y anticuerpos de detección biotinilados de R & D Systems, Minneapolis, MN (Nº de catálogo AF2460 y BAF2460, respectivamente) y el conjunto B de reactivos OptEIA (Nº de catálogo 550534, BD Biosciences, San José, CA). Los resultados siguientes se presentan como el porcentaje medio de los niveles de proteína del Factor XI en plasma para cada grupo de tratamiento, normalizado a los niveles de referencia. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un conjugado GalNAC fueron más potentes con una duración de acción más larga que el original que carecía de un conjugado GalNAC (ISIS 404071). Además, los oligonucleótidos que comprendían un conjugado 5'-GalNAC (ISIS 663086, 678347, 678348 y 678349) fueron incluso más potentes con una duración de acción incluso más larga que el oligonucleótido que comprendía un conjugado 3'-GalNAC (ISIS 656173).

Tabla 79

Niveles de proteína del Factor XI en plasma en ratones						
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	Punto temporal (días después de la dosis)	Factor XI (% del valor de referencia)	Grupo de GalNAC ₃	CM	SEQ ID No.
PBS	n/a	3	123	n/a	n/a	n/a
		10	56			
		17	100			
404071	30	3	11	n/a	n/a	832
		10	47			
		17	52			
656173	6	3	1	GalNAC ₃ -1a	A _d	833
		10	3			
		17	21			
663086	6	3	1	GalNAC ₃ -3a	A _d	841
		10	2			
		17	9			

(continuación)

Niveles de proteína del Factor XI en plasma en ratones							
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	Punto temporal (días después de la dosis)	Factor XI (% del valor de referencia)	Grupo de GalNac ₃	CM	SEQ ID No.	
5 10	678347	6	3	1	GalNac ₃ -7a	A _d	841
		10	1				
		17	8				
15	678348	6	3	1	GalNac ₃ -10a	A _d	841
		10	1				
		17	6				
20	678349	6	3	1	GalNac ₃ -13a	A _d	841
		10	1				
		17	5				

Ejemplo 93: Inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a SRB-1 que comprenden alas mixtas y un conjugado 5'-GalNac₃

Se probaron los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 100 en un estudio dependiente de la dosis para la inhibición antisentido de SRB-1 en ratones.

25

Tabla 100

ASO modificados dirigidos a SRB-1					
Nº de ISIS	Secuencias (5' a 3')	Grupo de GalNac ₃	CM	SEQ ID No.	
30	449093	T _{ks} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	n/a	n/a	852
35	699806	GalNac₃-3_{a-o} ·T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	GalNac ₃ -3a	PO	852
40	699807	GalNac₃-7_{a-o} ·T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	GalNac ₃ -7a	PO	852
45	699809	GalNac₃-7_{a-o} ·T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNac ₃ -7a	PO	852
50	699811	GalNac₃-7_{a-o} ·T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	GalNac ₃ -7a	PO	852
55	699813	GalNac₃-7_{a-o} ·T _{ds} T _{ds} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ds} ^m C _k	GalNac ₃ -7a	PO	852
60	699815	GalNac₃-7_{a-o} ·T _{es} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _e	GalNac ₃ -7a	PO	852

La estructura de GalNac₃-3_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 39, y la estructura de GalNac₃-7_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 48. Subíndices: "e" indica nucleósido 2'-MOE modificado; "d" indica β-D-2'-desoxirribonucleósido; "k" indica nucleósido bicíclico 6'-(S)-CH₃ (cEt); "s" indica enlaces internucleosídicos de fosforotioato (PS); "o" indica enlaces internucleosídicos de fosfodiéster (PO). Superíndice "m" indica 5-metilcitosinas.

60 Tratamiento

Se inyectó subcutáneamente a ratones C57BL/6 de seis a ocho semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) una vez a la dosificación mostrada a continuación con un oligonucleótido enumerado en la Tabla 100 o con solución salina. Cada grupo de tratamiento consistía de 4 animales. Los ratones fueron sacrificados 72 horas después de la administración final. Los niveles de ARNm de SRB-1 en el hígado se midieron usando PCR en tiempo

65

real. Los niveles de ARNm de SRB-1 se normalizaron a los niveles de ARNm de ciclofilina según los protocolos estándar. Los resultados se presentan como el porcentaje medio de los niveles de ARNm de SRB-1 para cada grupo de tratamiento con respecto al grupo de control de solución salina. Como se ilustra en la Tabla 101, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido disminuyó los niveles de ARNm de SRB-1 de manera dependiente de la dosis, y los oligonucleótidos gapmer que comprendían un conjugado GalNAc y que tenían alas que eran o modificaciones de cEt completas o modificaciones de azúcar mixtas fueron significativamente más potentes que el oligonucleótido original que carecía de un conjugado y que comprendía alas modificadas con cEt completo.

También se midieron los pesos corporales, las transaminasas hepáticas, la bilirrubina total y el BUN, y en la Tabla 101 se muestran los valores medios para cada grupo de tratamiento. El peso corporal se muestra como el porcentaje medio de peso corporal con respecto al peso corporal de referencia (% BL) medido justo antes de la dosis de oligonucleótidos.

Tabla 101

Niveles de ARNm de SRB-1, ALT, AST, BUN, y bilirrubina total y pesos corporales							
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de SRB-1 (5 PBS)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Bil	BUN	Peso corporal (% BL)
PBS	n/a	100	31	84	0.15	28	102
449093	1	111	18	48	0.17	31	104
	3	94	20	43	0.15	26	103
	10	36	19	50	0.12	29	104
699806	0.1	114	23	58	0.13	26	107
	0.3	59	21	45	0.12	27	108
	1	25	30	61	0.12	30	104
699807	0.1	121	19	41	0.14	25	100
	0.3	73	23	56	0.13	26	105
	1	24	22	69	0.14	25	102
699809	0.1	125	23	57	0.14	26	104
	0.3	70	20	49	0.10	25	105
	1	33	34	62	0.17	25	107
699811	0.1	123	48	77	0.14	24	106
	0.3	94	20	45	0.13	25	101
	1	66	57	104	0.14	24	107
699813	0.1	95	20	58	0.13	28	104
	0.3	98	22	61	0.17	28	105
	1	49	19	47	0.11	27	106
699815	0.1	93	30	79	0.17	25	105
	0.3	64	30	61	0.12	26	105
	1	24	18	41	0.14	25	106

Ejemplo 95: Inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a SRB-1 que comprenden nucleósidos bicíclicos y un conjugado 5'-GalNAc₃

Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 104 se probaron en un estudio dependiente de la dosis para la inhibición antisentido de SRB-1 en ratones.

Tabla 104

ASO modificados dirigidos a SRB-1				
Nº de ISIS	Secuencias (5' a 3')	Grupo de GalNAc ₃	CM	SEQ ID No
440762	T _{ks} mC _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{ks} mC _k	n/a	n/a	823
666905	GalNAc₃-3_a - o' T _{ks} mC _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{ks} mC _k	GalNAc ₃ -3 _a	PO	823
699782	GalNAc₃-7_a - o' T _{ks} mC _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{ks} mC _k	GalNAc ₃ -7 _a	PO	823
699783	GalNAc₃-3_a - o' T _{ls} mC _{ls} A _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{ls} mC _l	GalNAc ₃ -3 _a	PO	823

continuación)

ASO modificados dirigidos a SRB-1				
Nº de ISIS	Secuencias (5' a 3')	Grupo de GalNAc ₃	CM	SEQ ID No
5 653621	T _{Is} ^m C _{Is} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{Is} ^m C _{Io} A _{do'} -GalNAc _{3-1_a}	GalNAc _{3-1_a}	A _d	824
439879	T _{gs} ^m C _{gs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _d G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{gs} ^m C _g	n/a	n/a	823
10 699789	GalNAc _{3-3_a} -o'-T _{gs} ^m C _{gs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _d G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{gs} ^m C _g	GalNAc _{3-3_a}	PO	823

El subíndice "g" indica un nucleósido de fluoro-HNA, el subíndice "1" indica un nucleósido bloqueado que comprende un puente 2'-O-CH₂-4'. Ver la leyenda de la tabla del Ejemplo 74 para otras abreviaturas. La estructura de GalNAc_{3-1_a} se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 9, la estructura de GalNAc_{3-3_a} se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 39, y la estructura de GalNAc_{3-7_a} se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 48.

Tratamiento

El estudio se completó usando el protocolo descrito en el Ejemplo 93. Los resultados se muestran en la Tabla 105 a continuación y muestran que los oligonucleótidos que comprendían un conjugado GalNAc y varias modificaciones de nucleósidos bicíclicos fueron significativamente más potentes que el oligonucleótido original que carecía de un conjugado y que comprendía modificaciones de nucleósidos bicíclicos. Además, el oligonucleótido que comprende un conjugado de GalNAc y modificaciones de fluoro-HNA fue significativamente más potente que el original que carecía de un conjugado y que comprendía modificaciones de fluoro-HNA. Los resultados las mediciones de los pesos corporales, las transaminasas hepáticas, la bilirrubina total y de BUN indicaron que todos los compuestos fueron bien tolerados.

Tabla 105

Niveles de ARNm de SRB-1, ALT, AST, BUN, y bilirrubina total y pesos corporales		
Nº de ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de SRB-1 (% PBS)
PBS	n/a	100
35 440762	1	104
	3	65
	10	35
40 666905	0.1	105
	0.3	56
	1	18
45 699782	0.1	93
	0.3	63
	1	15
50 699783	0.1	105
	0.3	53
	1	12
55 653621	0.1	109
	0.3	82
	1	27
60 439879	1	96
	3	77
	10	37
65 699789	0.1	82
	0.3	69
	1	26

Ejemplo 96: Unión a proteínas plasmáticas de oligonucleótidos antisentido que comprenden un grupo conjugado GalNAc₃

Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 70 dirigidos a ApoC-III y los oligonucleótidos en la Tabla 106

dirigidos a Apo(a) se probaron en un ensayo de ultrafiltración para evaluar la unión a proteínas plasmáticas.

Tabla 106

Oligonucleótidos modificados dirigidos a Apo(a)				
Nº de ISIS	Secuencias (5' a 3')	Grupo de GalNAc ₃	CM	SEQ ID No
494372	T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} G _{es} T _{es} T _{es} ^m C _e	n/a	n/a	847
693401	T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} T _{es} ^m C _e	n/a	n/a	847
681251	GalNAc₃-7_a-o ·T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} G _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7 _a	PO	847
681257	GalNAc₃-7_a-o ·T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7 _a	PO	847

Ver el Ejemplo 47 para la leyenda de la tabla . La estructura de GalNAc₃-7_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 48.

Se pre-acondicionaron unidades de ultrafiltración Ultrafree-MC (30.000 NMWL, membrana de celulosa regenerada de baja unión, Millipore, Bedford, MA) con 300 µl de Tween 80 al 0,5% y se centrifugaron a 2000 g durante 10 minutos, luego con 300 µl de 300 µg/ml de solución de un oligonucleótido de control en H₂O y se centrifugaron a 2000 g durante 16 minutos. Para evaluar la unión no específica a los filtros de cada oligonucleótido de prueba de las Tablas 70 y 106 que se usarán en los estudios, se colocaron 300 µl de una solución de oligonucleótido de 250 ng/ml en H₂O a pH 7,4 en los filtros preacondicionados. y se centrifugaron a 2000 g durante 16 minutos. Las muestras no filtradas y filtradas se analizaron mediante un ensayo ELISA para determinar las concentraciones de oligonucleótidos. Se usaron tres réplicas para obtener una concentración media para cada muestra. La concentración media de la muestra filtrada con respecto a la muestra no filtrada se usa para determinar el porcentaje de oligonucleótido que se recupera a través del filtro en ausencia de plasma (% de recuperación).

Las muestras de plasma entero congelado recogidas en K3-EDTA de voluntarios humanos normales libres de drogas, monos cynomolgus y ratones CD-1, se adquirieron de Bioreclamation LLC (Westbury, NY). Los oligonucleótidos de prueba se añadieron a alícuotas de 1,2 ml de plasma a dos concentraciones (5 y 150 µg/ml). Se colocó una alícuota (300 µl) de cada muestra de plasma enriquecida en una unidad de filtro pre-acondicionada y se incubaron a 37° C durante 30 minutos, seguido inmediatamente por centrifugación a 2000 g durante 16 minutos. Se analizaron alícuotas de muestras de plasma enriquecidas filtradas y no filtradas mediante un ELISA para determinar la concentración de oligonucleótidos en cada muestra. Se usaron tres réplicas por concentración para determinar el porcentaje medio de oligonucleótido unido y no unido en cada muestra. La concentración media de la muestra filtrada con respecto a la concentración de la muestra no filtrada se usa para determinar el porcentaje de oligonucleótido en el plasma que no está unido a las proteínas plasmáticas (% no unido). Los valores finales de oligonucleótidos no unidos se corrigen para la unión no específica dividiendo el % no unido por el % de recuperación para cada oligonucleótido. Los valores finales de % de oligonucleótido unido se determinan restando los valores finales de % no unido de 100. Los resultados se muestran en la Tabla 107 para las dos concentraciones de oligonucleótido analizadas (5 y 150 µg/ml) en cada especie de plasma. Los resultados muestran que los grupos conjugados GalNAc no tienen un impacto significativo sobre la unión a proteínas plasmáticas. Además, los oligonucleótidos con enlaces internucleosídicos PS completos y enlaces PO/PS mixtos se unen ambos a proteínas plasmáticas, y aquellos con enlaces PS completos se unen a proteínas plasmáticas en un grado algo mayor que aquellos con enlaces PO/PS mixtos.

Tabla 107

Porcentaje de oligonucleótido modificado unido a proteínas plasmáticas						
Nº de ISIS	Plasma humano		Plasma de mono		Plasma de ratón	
	5 µg/ml	150 µg/ml	5 µg/ml	150 µg/ml	5 µg/ml	150 µg/ml
304801	99.2	98.0	99.8	99.5	98.1	97.2
663083	97.8	90.9	99.3	99.3	96.5	93.0
674450	96.2	97.0	98.6	94.4	94.6	89.3

(continuación)

Porcentaje de oligonucleótido modificado unido a proteínas plasmáticas						
Nº de ISIS	Plasma humano		Plasma de mono		Plasma de ratón	
	5 µg/ml	150 µg/ml	5 µg/ml	150 µg/ml	5 µg/ml	150 µg/ml
494372	94.1	89.3	98.9	97.5	97.2	93.6
693401	93.6	89.9	96.7	92.0	94.6	90.2
681251	95.4	93.9	99.1	98.2	97.8	96.1
681257	93.4	90.5	97.6	93.7	95.6	92.7

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

Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 109 fueron probados para efectos proinflamatorios en un ensayo de hPMBC como se describe en los Ejemplos 23 y 24. (Ver las Tablas 30, 83, 95 y 108 para las descripciones de los oligonucleótidos). ISIS 353512 es un respondedor alto usado como control positivo, y los otros oligonucleótidos se describen en las Tablas 83, 95 y 108. Los resultados mostrados en la Tabla 109 se obtuvieron usando sangre de un donante voluntario. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden enlaces internucleosídicos PO/PS mixtos produjeron respuestas proinflamatorias significativamente más bajas en comparación con los mismos oligonucleótidos que tienen enlaces PS completos. Además, el grupo conjugado GalNAc no tuvo un efecto significativo en este ensayo.

Tabla 109

Nº de ISIS	E _{max} /EC ₅₀	Grupo GalNAc ₃	Enlaces	CM
353512	3630	n/a	PS	n/a
420915	802	n/a	PS	n/a
682881	1311	GalNAc ₃ -10	PS	A _d
682888	0.26	GalNAc ₃ -10	PO/PS	A _d
684057	1.03	GalNAc ₃ -19	PO/PS	A _d

Ejemplo 99: Afinidades de unión de oligonucleótidos que comprenden un conjugado GalNAc para el receptor de asialoglicoproteína

Se probaron las afinidades de unión de los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 110 (ver Tabla 76 para las descripciones de los oligonucleótidos) para el receptor de asialoglicoproteína en un ensayo de unión de receptor competitivo. El ligando competidor, la glicoproteína α1-ácida (AGP), se incubó en tampón de acetato de sodio 50 mM (pH 5) con 1 U de neuraminidasa-agarosa durante 16 horas a 37° C, y se confirmó >90% de desialilación mediante ensayo de ácido siálico o cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Se usó monoclóruo de yodo para yodar el AGP de acuerdo con el procedimiento de Atsma et al. (ver J Lipid Res. enero 1991; 32(1):173-81). En este método, se añadió glucoproteína α1-ácida desialilada (de-AGP) a cloruro de yodo 10 mM, Na¹²⁵I y glicina 1 M en NaOH 0,25 M. Después de la incubación durante 10 minutos a temperatura ambiente, el de-AGP marcado con ¹²⁵I se separó del ¹²⁵I libre concentrando la mezcla dos veces utilizando una columna giratoria de 3 KDMWCO. Se probó la proteína para la eficacia del etiquetado y la pureza en un sistema HPLC equipado con una columna Agilent SEC-3 (7,8x300 mm) y un contador β-RAM. Los experimentos de competición que utilizan de-AGP marcado con ¹²⁵I y varios diversos ASO que contienen grupos GalNAc se realizaron de la siguiente manera. Se colocaron en placas células HepG2 humanas (10⁶ células/ml) en placas de 6 pocillos en 2 ml de medio de crecimiento apropiado. Se usaron medios MEM suplementados con suero bovino fetal al 10% (FBS), L-Glutamina 2 mM y HEPES 10 mM. Las células se incubaron 16-20 horas a 37° C con 5% y 10% de CO₂, respectivamente. Las células se lavaron con medio sin FBS antes del experimento. Las células se incubaron durante 30 minutos a 37° C con una mezcla competitiva de 1 ml que contenía medio de crecimiento apropiado con FBS al 2%, de-AGP marcado con ¹²⁵I 10⁻⁸ M y grupo de GalNAc que contenía ASO a concentraciones que varían de 10⁻¹¹ a 10⁻⁵. Se determinó la unión inespecífica de 5 M. En presencia de azúcar GalNAc 10⁻² M. Las células se lavaron dos veces con medio sin FBS para eliminar el de-AGP marcado con ¹²⁵I no unido y el ASO de GalNAc competidor. Las células se lisaron usando tampón RLT de Qiagen que contenía β-mercaptoetanol al 1%. Los lisados se transfirieron a tubos de ensayo de fondo redondo después de un breve ciclo de congelación/descongelación de 10 minutos y se analizaron en un contador γ. La unión no específica se sustrajo antes de dividir los recuentos de proteínas ¹²⁵I por el valor de los recuentos de concentración de GalNAc-ASO más bajos. Las curvas de inhibición se ajustaron de acuerdo con una ecuación de unión de competición de sitio único usando un algoritmo de regresión no lineal para calcular las afinidades de unión (K_D).

Los resultados en la Tabla 110 se obtuvieron de experimentos realizados en cinco días diferentes. Los resultados para los oligonucleótidos marcados con el superíndice "a" son la media de los experimentos ejecutados en dos días diferentes. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado GalNAc en el extremo 5' se unen al receptor de asialoglicoproteína en células HepG2 humanas con una afinidad de 1,5 a 1,6 veces mayor que los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado GalNAc en el extremo 3'.

Tabla 110

Resultados del ensayo de unión al receptor de asialoglicoproteína			
Nº de ISIS	Conjugado GalNAc	Extremo del oligonucleótido al que está unido el conjugado GalNAc	K _D (nM)
661161 ^a	GalNAc ₃ -3	5'	3.7
666881 ^a	GalNAc ₃ -10	5'	7.6
666981	GalNAc ₃ -7	5'	6.0
670061	GalNAc ₃ -13	5'	7.4
655861 ^a	GalNAc ₃ -1	3'	11.6
677841 ^a	GalNAc ₃ -19	3'	60.8

Ejemplo 101: inhibición antisentido por oligonucleótidos que comprenden un grupo GalNAc unido a través de una fracción estable

Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 112 se probaron para la inhibición de la expresión de APOC-III de ratón *in vivo*. A cada uno de los ratones C57B1/6 se le inyectó por vía subcutánea una vez con un oligonucleótido enumerado en la Tabla 112 o con PBS. Cada grupo de tratamiento consistía de 4 animales. Cada ratón tratado con ISIS 440670 recibió una dosis de 2, 6, 20 o 60 mg/kg. Cada ratón tratado con ISIS 680772 o 696847 recibió 0,6, 2, 6 o 20 mg/kg. El grupo conjugado GalNAc de ISIS 696847 está enlazado a través de una fracción estable, un enlace de fosforotioato en lugar de un enlace que contiene fosfodiéster fácilmente escindible. Los animales fueron sacrificados 72 horas después de la dosis. Los niveles de ARNm de APOC-III en el hígado se midieron usando PCR en tiempo real. Los niveles de ARNm de APOC-III se normalizaron a niveles de ARNm de ciclofilina de acuerdo con protocolos estándar. Los resultados se presentan en la Tabla 112 como el porcentaje medio de los niveles de ARNm de APOC-III para cada grupo de tratamiento con respecto al grupo de control de solución salina. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc fueron significativamente más potentes que el oligonucleótido que carece de un grupo conjugado. Además, el oligonucleótido que comprendía un grupo conjugado de GalNAc enlazado al oligonucleótido a través de una fracción escindible (ISIS 680772) fue incluso más potente que el oligonucleótido que comprendía un grupo conjugado de GalNAc enlazado al oligonucleótido a través de una fracción estable (ISIS 696847).

Tabla 112

Oligonucleótidos modificados dirigidos a APOC-III de ratón					
Nº de ISIS	Secuencias (5' a 3')	CM	Dosificación (mg/kg)	ARNm de APOC-III (% PBS)	SEQ ID No.
440670	^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _e	n/a	2	92	849
			6	86	
			20	59	
			60	37	
680772	GalNAc₃-7_{a-o} , ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _e	PO	0.6	79	849
			2	58	
			6	31	
			20	13	
696847	GalNAc₃-7_{a-} ^s , ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _e	n/a (PS)	0.6	83	849
			2	73	
			6	40	
			20	28	

La estructura de GalNac_{3-7a} se muestra en el Ejemplo 48.

Ejemplo 113: Inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a CFB

5 Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 121 se probaron en un estudio dependiente de la dosis para la inhibición antisentido del Factor B del Complemento (CFB) humano en ratones.

Tabla 121

ASO modificados dirigidos a CFB				
Nº de ISIS No.	Secuencias (5' a 3')	Grupo GalNac ₃	CM	SEQ ID No.
10 15	$A_{es}T_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m A_{ds}^m C_{ds}^m G_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds}^m$ $^m C_{ds}^m T_{ds}^m G_{ds}^m T_{ds}^m C_{es}^m C_{es}^m A_{es}^m G_{es}^m C_e$	n/a	n/a	440
20	GalNac_{3-3a} · $A_{es}T_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m A_{ds}^m C_{ds}^m G_{ds}^m$ $^m C_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds}^m T_{ds}^m G_{ds}^m T_{ds}^m C_{es}^m C_{es}^m A_{es}^m G_{es}^m C_e$	GalNac _{3-3a}	PO	440

La estructura de GalNac_{3-3a} se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 39.

Tratamiento

25 Se inyectó a ratones transgénicos que expresan CFB humano (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) por vía subcutánea una vez por semana durante 3 semanas (un total de 4 dosis) un oligonucleótido enumerado en la Tabla 122 o con solución salina. Los cuatro grupos de tratamiento que recibieron ISIS Nº 588540 recibieron 6, 12, 25 o 50 mg/kg por dosis. Los cuatro grupos de tratamiento que recibieron ISIS Nº 687301 recibieron 0,25, 0,5, 2 o 6 mg/kg por dosis. Cada grupo de tratamiento consistía de 4 animales. Los ratones se sacrificaron 2 días después de la administración final para determinar los niveles de ARNm de CFB y ciclofilina humana del hígado y riñón usando PCR en tiempo real de acuerdo con protocolos estándar. Los niveles de ARNm de CFB se normalizaron a los niveles de ciclofilina, y se usaron las medias para cada grupo de tratamiento para determinar la dosis que logró una inhibición del 50% de la expresión del transcrito de CFB humano (ED₅₀). Los resultados son las medias de cuatro experimentos completados con dos conjuntos de sondas de cebador diferentes y se muestran en la Tabla 122.

Tabla 122

Potencias de oligonucleótidos dirigidos a CFB humano <i>in vivo</i>					
Nº de ISIS	ED ₅₀ en hígado (mg/kg)	ED ₅₀ en riñón (mg/kg)	Grupo de GalNac ₃	CM	
40	588540	7.9	11.7	n/a	n/a
	687301	0.49	0.35	GalNac _{3-3a}	PO

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

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

Los oligonucleótidos enumerados en la Tabla 123 se probaron en un estudio dependiente de la dosis para la inhibición antisentido de CFB humano en ratones.

Tratamiento

55 Se inyectó a ratones transgénicos que expresan CFB humano (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) por vía subcutánea una vez con 0,6, 1, 6 o 18 mg/kg de un oligonucleótido enumerado en la Tabla 123 o con solución salina. Cada grupo de tratamiento consistía de 4 o 5 animales. Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la dosis para determinar los niveles de ARNm de CFB y ciclofilina humana en el hígado usando PCR en tiempo real de acuerdo con protocolos estándar. Los niveles de ARNm de CFB se normalizaron a los niveles de ciclofilina, y se usaron las medias para cada grupo de tratamiento para determinar la dosis que logró una inhibición del 50% de la expresión del transcrito de CFB humano (ED₅₀). Los resultados se muestran en la Tabla 123.

65

Tabla 123

ASO modificados dirigidos a CFB					
Nº de ISIS	Secuencias (5' a 3')	Grupo de GalNAC ₃	CM	ED ₅₀ en hígado (mg/kg)	SEQ ID No.
5 696844	GalNAC₃-7_{a-o'} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{ds} ^m C _{ds} ^m G _{ds} ^m ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m T _{ds} ^m G _{ds} ^m T _{ds} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} ^m G _{es} ^m C _e	GalNAC ₃ -7a	PO	0.86	440
10 696845	GalNAC₃-7_{a-o'} A _{es} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m A _{ds} ^m C _{ds} ^m G _{ds} ^m ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m T _{ds} ^m G _{ds} ^m T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m A _{es} ^m G _{es} ^m C _e	GalNAC ₃ -7a	PO	0.71	440
10 698969	GalNAC₃-7_{a-o'} A _{es} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m A _{ds} ^m C _{ds} ^m G _{ds} ^m ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m T _{ds} ^m G _{ds} ^m T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m A _{es} ^m G _{es} ^m C _e	GalNAC ₃ -7a	PO	0.51	440
15 698970	GalNAC₃-7_{a-o'} A _{es} T _{es} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m A _{ds} ^m C _{ds} ^m G _{ds} ^m ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m T _{ds} ^m G _{ds} ^m T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m A _{es} ^m G _{es} ^m C _e	GalNAC ₃ -7a	PO	0.55	440

La estructura de GalNAC₃-7_a se ha mostrado anteriormente en el Ejemplo 48.

Ejemplo 115: Inhibición antisentido del Factor B del Complemento humano (CFB) en células HepG2 por gapmers de MOE

Se diseñaron oligonucleótidos antisentido dirigidos al ácido nucleico del Factor B del Complemento humano (CFB) y se probaron sus efectos en el ARNm de CFB in vitro. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con un oligonucleótido antisentido 4.500 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó un conjunto de sondas de cebador humano RTS3459 (secuencia directa AGTCTCTGTGGCATGGTTTGG, designada en la presente como SEQ ID NO: 810; secuencia inversa GGGCGAATGACTGAGATCTTG, designada en la presente como SEQ ID NO: 811; secuencia de sonda TACCGATTACCACAAGCAACCATGGCA, designada en la presente como SEQ ID NO: 812) para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos de nuevo diseño en las Tablas siguientes se diseñaron como gapmers de 5-10-5 MOE. Los gapmers de 5-10-5 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central está compuesto de diez 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Cada nucleósido en el segmento del ala 5' y cada nucleósido en el segmento del ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina a lo largo de cada gapmer son 5-metilcitosinas. "Sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que está dirigido el gapmer en la secuencia genética humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más 3' al que está dirigido el gapmer en secuencia genética humana. Cada gapmer enumerado en las Tablas siguientes está dirigido al ARNm de CFB humano, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de Acceso de GENBANK NM_001710.5) o la secuencia genómica del CFB humano, designada en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de Acceso de GENBANK NT_007592.15 truncado a partir de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o ambos. 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no está dirigido a esa secuencia genética en particular con un 100% de complementariedad.

Tabla 124

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:
532608	20	39	Exón 1	GCTGAGCTGCCAGTCAAGGA	36	1741	1760	6
532609	26	45	Exón 1	GGCCCCGCTGAGCTGCCAGT	16	1747	1766	7
532610	45	64	Exón 1	CGGAACATCCAAGCGGGAGG	11	1766	1785	8
532611	51	70	Exón 1	CTTTCCCGAACATCCAAGC	26	1772	1791	9
532612	100	119	Exón 1	ATCTGTGTTCTGGCACCTGC	25	1821	1840	10
532613	148	167	Exón 1	GTCACATTCCCTTCCCCTGC	39	1869	1888	11
532614	154	173	Exón 1	GACCTGGTCACATTCCCTTC	71	1875	1894	12
532615	160	179	Exón 1	GACCTAGACCTGGTCACATT	35	1881	1900	13

ES 2 745 825 T3

(continuación)

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

	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:
5	532616	166	185	Exón 1	ACTCCAGACCTAGACCTGGT	39	1887	1906	14
	532617	172	191	Exón 1	GCTGAAACTCCAGACCTAGA	27	1893	1912	15
10	532618	178	197	Exón 1	GTCCAAGCTGAAACTCCAGA	29	1899	1918	16
	532619	184	203	Exón 1	CTCAGTGTCCAAGCTGAAAC	21	1905	1924	17
	532620	246	265	Exón 1	AGGAGAGAAGCTGGGCCTGG	31	1967	1986	18
	532621	252	271	Exón 1	GAAGGCAGGAGAGAAGCTGG	25	1973	1992	19
15	532622	336	355	Unión Exón 1-2	GTGGTGGTCACACCTCCAGA	28	n/a	n/a	20
	532623	381	400	Exón 2	CCCTCCAGAGAGCAGGATCC	22	2189	2208	21
	532624	387	406	Exón 2	TCTACCCCTCCAGAGAGCA	37	2195	2214	22
20	532625	393	412	Exón 2	TTGATCTTACCCCTCCAG	30	2201	2220	23
	532626	417	436	Exón 2	TGGAGAAGTCGGAAGGAGCC	35	2225	2244	24
	532627	423	442	Exón 2	CCCTCTTGAGAAGTCGGAA	37	2231	2250	25
	532628	429	448	Exón 2	GCCTGGCCCTCTTGAGAAG	0	2237	2256	26
25	532629	435	454	Exón 2	TCCAGTGCCTGGCCCTTTG	26	2243	2262	27
	532630	458	477	Exón 2	AGAAGCCAGAAGGACACACG	30	2266	2285	28
	532631	464	483	Exón 2	ACGGGTAGAAGCCAGAAGGA	43	2272	2291	29
	532632	480	499	Exón 2	CGTGTCTGCACAGGGTACGG	57	2288	2307	30
30	532633	513	532	Exón 2	AGGGTGTCCAGGACCCCGT	27	2321	2340	31
	532634	560	579	Exón 2-3 Junction	TTGCTCTGCACTCTGCCTTC	41	n/a	n/a	32
	532635	600	619	Exón 3	TATCCCGTTCTCGAAGTC	67	2808	2827	33
35	532636	626	645	Exón 3	CATTGTAGTAGGGAGACCGG	24	2834	2853	34
	532637	632	651	Exón 3	CACTCACATTGTAGTAGGGA	49	2840	2859	35
	532638	638	657	Exón 3	TCTCATCACTCACATTGTAG	50	2846	2865	36
	532639	644	663	Exón 3	AAGAGATCTCATCACTCACA	52	2852	2871	37
40	532640	650	669	Exón 3	AGTGGAAAGAGATCTCATCA	34	2858	2877	38
	532641	656	675	Exón 3	CATAGCAGTGGAAAGAGATC	32	2864	2883	39
	532642	662	681	Exón 3	AACCGTCATAGCAGTGGAAA	45	2870	2889	40
	532643	668	687	Exón 3	GAGTGTAACCGTCATAGCAG	36	2876	2895	41
	532644	674	693	Exón 3	CCCGGAGAGTGTAAACCGTCA	30	2882	2901	42
45	532645	680	699	Exón 3	CAGAGCCCCGAGAGTGTAA	27	2888	2907	43
	532646	686	705	Exón 3	GATTGGCAGAGCCCCGGAGA	20	2894	2913	44
	532647	692	711	Exón 3	AGGTGCGATTGGCAGAGCCC	28	2900	2919	45
	532648	698	717	Exón 3	CTTGGCAGGTGCGATTGGCA	24	2906	2925	46
50	532649	704	723	Exón 3	CATTCACTTGGCAGGTGCGA	28	2912	2931	47
	532650	729	748	Exón 3	ATCGCTGTCTGCCACTCCA	44	2937	2956	48
	532651	735	754	Exón 3	TCACAGATCGCTGTCTGCC	44	2943	2962	49
	532652	741	760	Exón 3	CCGTTGTACAGATCGCTGT	27	2949	2968	50
55	532653	747	766	Unión Exón 3-4	CCCGCTCCGTTGTACAGAT	28	n/a	n/a	51
	532654	753	772	Unión Exón 3-4	CAGTACCCCGCTCCGTTGTC	13	n/a	n/a	52
60	532655	759	778	Unión Exón 3-4	TTGGAGCAGTACCCCGCTCC	8	n/a	n/a	53
	532656	789	808	Exón 4	ACCTTCCTTGTGCCAATGGG	40	3152	3171	54
	532657	795	814	Exón 4	CTGCCACCTTCTTGTGCC	41	3158	3177	55
	532658	818	837	Exón 4	CGCTGTCTTCAAGCCGGTAC	33	3181	3200	56
65	532659	835	854	Exón 4	GCTGCAGTGGTAGGTGACGC	32	3198	3217	57

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:	
5	532660	841	860	Exón 4	CCCCCGGCTGCAGTGGTAGG	17	3204	3223	58
	532661	847	866	Exón 4	GGTAAGCCCCCGGCTGCAGT	28	3210	3229	59
10	532662	853	872	Exón 4	ACGCAGGGTAAGCCCCGGC	13	3216	3235	60
	532663	859	878	Exón 4	GGAGCCACGCAGGGTAAGCC	33	3222	3241	61
	532664	866	885	Exón 4	GCCGCTGGGAGCCACGCAGG	10	3229	3248	62
	532665	891	910	Exón 4	CAAGAGCCACCTTCTGACA	17	3254	3273	63
15	532666	897	916	Exón 4	CCGCTCCAAGAGCCACCTTC	25	3260	3279	64
	532667	903	922	Exón 4	TCCGTCCCGCTCCAAGAGCC	29	3266	3285	65
	532668	909	928	Exón 4	GAAGGCTCCGTCCCGCTCCA	14	3272	3291	66
	532669	915	934	Exón 4	TGGCAGGAAGGCTCCGTCCC	18	3278	3297	67
20	532670	921	940	Unión Exón 4-5	GAGTCTTGGCAGGAAGGCTC	20	n/a	n/a	68
	532671	927	946	Unión Exón 4-5	ATGAAGGAGTCTTGGCAGGA	14	n/a	n/a	69
25	532672	956	975	Exón 5	CTTCGGCCACCTCTTGAGGG	45	3539	3558	70
	532673	962	981	Exón 5	GGAAAGCTTCGGCCACCTCT	37	3545	3564	71
	532674	968	987	Exón 5	AAGACAGGAAAGCTTCGGCC	28	3551	3570	72
	532675	974	993	Exón 5	TCAGGGAAGACAGGAAAGCT	16	3557	3576	73
	532676	996	1015	Exón 5	TCGACTCCTTCTATGGTCTC	31	3579	3598	74
30	532677	1033	1052	Unión Exón 5-6	CTTCTGTTGTTCCCCTGGGC	36	n/a	n/a	75
	532678	1068	1087	Exón 6	TTCATGGAGCCTGAAGGGTC	19	3752	3771	76
	532679	1074	1093	Exón 6	TAGATGTTTCATGGAGCCTGA	24	3758	3777	77
35	532680	1080	1099	Exón 6	ACCAGGTAGATGTTTCATGGA	13	3764	3783	78
	532681	1086	1105	Exón 6	TCTAGCACCCAGGTAGATGTT	20	3770	3789	79
	532682	1092	1111	Exón 6	GATCCATCTAGCACCCAGGTA	33	3776	3795	80
	532683	1098	1117	Exón 6	CTGTCTGATCCATCTAGCAC	44	3782	3801	81
40	532684	1104	1123	Exón 6	CCAATGCTGTCTGATCCATC	29	3788	3807	82
	532685	1129	1148	Exón 6	TTTGGCTCCTGTGAAGTTGC	40	3813	3832	83

Tabla 125

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:	
45	532686	1135	1154	Exón 6	ACACTTTTTGGCTCCTGTGA	91	3819	3838	84
	532687	1141	1160	Exón 6	GACTAGACACTTTTTGGCTC	77	3825	3844	85
	532688	1147	1166	Exón 6	TAAGTTGACTAGACACTTTT	70	3831	3850	86
	532689	1153	1172	Exón 6	CTCAATTAAGTTGACTAGAC	61	3837	3856	87
55	532690	1159	1178	Unión Exón 6-7	CACCTTCTCAATTAAGTTGA	57	3843	3862	88
	532691	1165	1184	Unión Exón 6-7	ACTTGCCACCTTCTCAATTA	56	n/a	n/a	89
60	532692	1171	1190	Unión Exón 6-7	ACCATAACTTGCCACCTTCT	56	n/a	n/a	90
	532693	1177	1196	Exón 7	CTTCACACCATAACTTGCCA	56	4153	4172	91
	532694	1183	1202	Exón 7	TCTTGGCTTCACACCATAAC	55	4159	4178	92
	532695	1208	1227	Exón 7	ATGTGGCATATGTCACTAGA	55	4184	4203	93
65	532696	1235	1254	Exón 7	CAGACACTTTGACCCAAATT	55	4211	4230	94

ES 2 745 825 T3

(continuación)

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

	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:
5	532697	1298	1317	Unión Exón 7-8	GGTCTTCATAATTGATTTCA	53	n/a	n/a	95
10	532698	1304	1323	Unión Exón 7-8	ACTTGTGGTCTTCATAATTG	53	n/a	n/a	96
	532699	1310	1329	Unión Exón 7-8	ACTTCAACTTGTGGTCTTCA	52	n/a	n/a	97
15	532700	1316	1335	Exón 8	TCCCTGACTTCAACTTGTGG	52	4609	4628	98
	532701	1322	1341	Exón 8	TGTTAGTCCCTGACTTCAAC	52	4615	4634	99
	532702	1328	1347	Exón 8	TCTTGGTGTAGTCCCTGAC	51	4621	4640	100
	532703	1349	1368	Exón 8	TGTACACTGCCTGGAGGGCC	51	4642	4661	101
20	532704	1355	1374	Exón 8	TCATGCTGTACACTGCCTGG	51	4648	4667	102
	532705	1393	1412	Exón 8	GTTCCAGCCTTCAGGAGGGA	50	4686	4705	103
	532706	1399	1418	Exón 8	GGTGCGGTTCCAGCCTTCAG	50	4692	4711	104
	532707	1405	1424	Exón 8	ATGGCGGGTGCGGTTCCAGC	50	4698	4717	105
	532708	1411	1430	Exón 8	GATGACATGGCGGGTGCGGT	49	4704	4723	106
25	532709	1417	1436	Exón 8	GAGGATGATGACATGGCGGG	49	4710	4729	107
	532710	1443	1462	Unión Exón 8-9	CCCATGTTGTGCAATCCATC	48	n/a	n/a	108
	532711	1449	1468	Exón 9	TCCCCGCCCATGTTGTGCAA	48	5023	5042	109
30	532712	1455	1474	Exón 9	ATTGGGTCCCCGCCCATGTT	48	5029	5048	110
	532713	1461	1480	Exón 9	ACAGTAATTGGGTCCCCGCC	48	5035	5054	111
	532714	1467	1486	Exón 9	TCAATGACAGTAATTGGGTC	47	5041	5060	112
	532715	1473	1492	Exón 9	ATCTCATCAATGACAGTAAT	47	5047	5066	113
35	532716	1479	1498	Exón 9	TCCCGGATCTCATCAATGAC	46	5053	5072	114
	532717	1533	1552	Unión Exón 9-10	ACATCCAGATAATCCTCCCT	46	n/a	n/a	115
40	532718	1539	1558	Unión Exón 9-10	ACATAGACATCCAGATAATC	46	n/a	n/a	116
	532719	1545	1564	Unión Exón 9-10	CCAAACACATAGACATCCAG	46	n/a	n/a	117
45	532720	1582	1601	Exón 10	AGCATTGATGTTCACTTGGT	46	5231	5250	118
	532721	1588	1607	Exón 10	AGCCAAAGCATTGATGTTCA	45	5237	5256	119
	532722	1594	1613	Exón 10	CTTGGAAGCCAAAGCATTGA	45	5243	5262	120
50	532723	1600	1619	Exón 10	GTCTTTCTTGGAAGCCAAAG	45	5249	5268	121
	532724	1606	1625	Exón 10	CTCATTGTCTTTCTTGGAAG	44	5255	5274	122
	532725	1612	1631	Exón 10	ATGTTGCTCATTGTCTTTCT	44	5261	5280	123
	532726	1618	1637	Exón 10	GAACACATGTTGCTCATTGT	44	5267	5286	124
	532727	1624	1643	Exón 10	GACTTTGAACACATGTTGCT	43	5273	5292	125
55	532728	1630	1649	Exón 10	ATCCTTGACTTTGAACACAT	43	5279	5298	126
	532729	1636	1655	Exón 10	TTCCATATCCTTGACTTTGA	43	5285	5304	127
	532730	1642	1661	Exón 10	CAGGTTTTCCATATCCTTGA	42	5291	5310	128
	532731	1686	1705	Exón 11	CTCAGAGACTGGCTTTCATC	42	5827	5846	129
	532732	1692	1711	Exón 11	CAGAGACTCAGAGACTGGCT	42	5833	5852	130
60	516252	1698	1717	Exón 11	ATGCCACAGAGACTCAGAGA	42	5839	5858	131
	532733	1704	1723	Exón 11	CAAACCATGCCACAGAGACT	41	5845	5864	132
	532734	1710	1729	Exón 11	TGTTCCCAAACCATGCCACA	41	5851	5870	133
65	532735	1734	1753	Exón 11	TTGTGGTAATCGGTACCCTT	41	5875	5894	134

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:	
5	532736	1740	1759	Exón 11	GGTTGCTTGTGGTAATCGGT	40	5881	5900	135
	532737	1746	1765	Exón 11	TGCCATGGTTGCTTGTGGTA	40	5887	5906	136
10	532738	1752	1771	Exón 11	TTGGCCTGCCATGGTTGCTT	40	5893	5912	137
	532739	1758	1777	Exón 11	GAGATCTTGGCCTGCCATGG	38	5899	5918	138
	532740	1803	1822	Exón 12	ACAGCCCCCATAACAGCTCTC	38	6082	6101	139
	532741	1809	1828	Exón 12	GACACCACAGCCCCATACA	38	6088	6107	140
15	532742	1815	1834	Exón 12	TACTCAGACACCACAGCCCC	38	6094	6113	141
	532743	1821	1840	Exón 12	ACAAAGTACTCAGACACCAC	37	6100	6119	142
	532744	1827	1846	Exón 12	GTCAGCACAAAGTACTCAGA	37	6106	6125	143
	532745	1872	1891	Exón 12	TTGATTGAGTGTTTCCTTGTC	36	6151	6170	144
20	532746	1878	1897	Exón 12	CTGACCTTGATTGAGTGTTT	35	6157	6176	145
	532747	1909	1928	Exón 13	TATCTCCAGGTCCCCTTCT	35	6403	6422	146
	532748	1967	1986	Exón 13	GAATTCCTGCTTCTTTTTTC	32	6461	6480	147
	532749	1973	1992	Exón 13	ATTCAGGAATTCCTGCTTCT	32	6467	6486	148
25	532750	1979	1998	Exón 13	CATAAAATTCAGGAATTCCT	32	6473	6492	149
	532751	1985	2004	Exón 13	CATAGTCATAAAATTCAGGA	31	6479	6498	150
	532752	2006	2025	Exón 13	TGAGCTTGATCAGGGCAACG	30	6500	6519	151
	532753	2012	2031	Exón 13	TATTCTTGAGCTTGATCAGG	30	6506	6525	152
30	532754	2048	2067	Unión Exón 13-14	GACAAATGGGCCTGATAGTC	30	n/a	n/a	153
	532755	2070	2089	Exón 14	GTTGTTCCCTCGGTGCAGGG	29	6659	6678	154
	532756	2076	2095	Exón 14	GCTCGAGTTGTTCCCTCGGT	28	6665	6684	155
35	532757	2082	2101	Exón 14	CTCAAAGCTCGAGTTGTTCC	28	6671	6690	156
	532758	2088	2107	Exón 14	GGAAGCCTCAAAGCTCGAGT	25	6677	6696	157
	532759	2094	2113	Exón 14	GTTGGAGGAAGCCTCAAAGC	23	6683	6702	158
	532760	2100	2119	Exón 14	GTGGTAGTTGGAGGAAGCCT	23	6689	6708	159
40	532761	2106	2125	Exón 14	TGGCAAGTGGTAGTTGGAGG	18	6695	6714	160
	532762	2112	2131	Exón 14	TGTTGCTGGCAAGTGGTAGT	14	6701	6720	161

Tabla 126

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:	
45	532812	n/a	n/a	Exón 1	TCCAGCTCACTCCCCTGTTG	19	1593	1612	162
	532813	n/a	n/a	Exón 1	TAAGGATCCAGCTCACTCCC	40	1599	1618	163
	532814	n/a	n/a	Exón 1	CAGAAATAAGGATCCAGCTC	39	1605	1624	164
	532815	n/a	n/a	Exón 1	AGGGACCAGAAATAAGGATC	0	1611	1630	165
55	532816	n/a	n/a	Exón 1	CCACTTAGGGACCAGAAATA	27	1617	1636	166
	532817	n/a	n/a	Exón 1	TCCAGGACTCTCCCCTTCCAG	39	1682	1701	167
	532818	n/a	n/a	Exón 1	AAGTCCCACCCTTTGCTGCC	15	1707	1726	168
	532819	n/a	n/a	Exón 1	CTGCAGAAGTCCCACCCTTT	26	1713	1732	169
60	532820	n/a	n/a	Exón 1	CAGAAACTGCAGAAGTCCCA	8	1719	1738	170
	532821	n/a	n/a	Exón 2 - Intrón 2	AACCTCTGCACTCTGCCTTC	39	2368	2387	171
65	532822	n/a	n/a	Exón 2 - Intrón 2	CCCTCAAACCTCTGCACTCT	3	2374	2393	172

ES 2 745 825 T3

(continuación)

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

Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:
532823	n/a	n/a	Exón 2 - Intrón 2	TCATTGCCCTCAAACCTCTG	19	2380	2399	173
532824	n/a	n/a	Intrón 2	CCACTCATTGCCCTCAA	37	2386	2405	174
532825	n/a	n/a	Intrón 2	CACTGCCACACTCATTGCC	23	2392	2411	175
532826	n/a	n/a	Intrón 2	TTAGGCCACTGCCCACTC	15	2398	2417	176
532827	n/a	n/a	Intrón 2	CTAGCTGACCTTGCTGCC	28	2436	2455	177
532828	n/a	n/a	Intrón 2	CTCATCCTAGTCCTGACCTT	25	2442	2461	178
532829	n/a	n/a	Intrón 2	CCTAGTCTCATCCTAGTCCT	23	2448	2467	179
532830	n/a	n/a	Intrón 2	ACCCTGCCTAGTCTCATCCT	30	2454	2473	180
532831	n/a	n/a	Intrón 2	CTTGTCACCCTGCCTAGTCT	34	2460	2479	181
532832	n/a	n/a	Intrón 2	GCCACCTTGTCACCCTGCC	36	2466	2485	182
532833	n/a	n/a	Intrón 2	CCTAAACTGCTCCTACTCC	9	2492	2511	183
532834	n/a	n/a	Intrón 4	GAGTCAGAAATGAGGTCAA	19	3494	3513	184
532835	n/a	n/a	Intrón 11	CCCTACTCCCATTTCACCTT	16	5971	5990	185
532836	n/a	n/a	Intrón 8 - Exón 9	TGTTGTGCAATCCTGCAGAA	25	5013	5032	186
532837	n/a	n/a	Intrón 1	AAAGGCTGATGAAGCCTGGC	18	2123	2142	187
532838	n/a	n/a	Intrón 7	CCTTTGACCACAAAGTGGCC	21	4461	4480	188
532839	n/a	n/a	Intrón 12	AGGTACCACCTCTTTGTGGG	29	6362	6381	189
532840	n/a	n/a	Intrón 1 - Exón 2	TGGTGGTCACACCTGAAGAG	34	2143	2162	190
532763	2133	2152	Unión Exón 14-15	GCAGGGAGCAGCTCTTCCTT	40	n/a	n/a	191
532764	2139	2158	Exón 15	TCCTGTGCAGGGAGCAGCTC	28	6927	6946	192
532765	2145	2164	Exón 15	TTGATATCCTGTGCAGGGAG	41	6933	6952	193
532766	2151	2170	Exón 15	AGAGCTTTGATATCCTGTGC	36	6939	6958	194
532767	2157	2176	Exón 15	ACAAACAGAGCTTTGATATC	33	6945	6964	195
532768	2163	2182	Exón 15	TCAGACACAAACAGAGCTTT	41	6951	6970	196
532769	2169	2188	Exón 15	TCCTCCTCAGACACAAACAG	49	6957	6976	197
532770	2193	2212	Exón 15	ACCTCCTCCGAGTCAGCTT	61	6981	7000	198
532771	2199	2218	Exón 15	ATGTAGACCTCCTCCGAGT	39	6987	7006	199
532772	2205	2224	Exón 15	TTCTTGATGTAGACCTCCTT	30	6993	7012	200
532773	2211	2230	Exón 15	TCCCCATTCTTGATGTAGAC	31	6999	7018	201
532774	2217	2236	Unión Exón 15-16	TTCTTATCCCCATTCTTGAT	36	n/a	n/a	202
532775	2223	2242	Unión Exón 15-16	CTGCCTTTCTTATCCCCATT	56	n/a	n/a	203
532776	2229	2248	Unión Exón 15-16	TCACAGCTGCCTTTCTTATC	33	n/a	n/a	204
532777	2235	2254	Exón 16	TCTCTCACAGCTGCCTTT	38	7119	7138	205
532778	2241	2260	Exón 16	TGAGCATCTCTCACAGCT	51	7125	7144	206
532779	2247	2266	Exón 16	GCATATTGAGCATCTCTC	39	7131	7150	207
532780	2267	2286	Exón 16	TGACTTTGTCATAGCCTGGG	56	7151	7170	208
532781	2273	2292	Exón 16	TGTCCTTGACTTTGTCATAG	36	7157	7176	209
532782	2309	2328	Exón 16	CAGTACAAAGGAACCGAGGG	30	7193	7212	210

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:	
5	532783	2315	2334	Exón 16	CTCCTCCAGTACAAAGGAAC	21	7199	7218	211
	532784	2321	2340	Exón 16	GACTCACTCCTCCAGTACAA	31	7205	7224	212
10	532785	2327	2346	Exón 16	CATAGGGACTCACTCCTCCA	30	7211	7230	213
	532786	2333	2352	Exón 16	GGTCAGCATAGGGACTCACT	31	7217	7236	214
	532787	2352	2371	Unión Exón 16-17	TCACCTCTGCAAGTATTGGG	42	7236	7255	215
15	532788	2358	2377	Unión Exón 16-17	CCAGAATCACCTCTGCAAGT	32	n/a	n/a	216
	532789	2364	2383	Unión Exón 16-17	GGGCCGCCAGAATCACCTCT	35	n/a	n/a	217
20	532790	2382	2401	Exón 17	CTCTTGTTGAACTATCAAGGG	33	7347	7366	218
	532791	2388	2407	Exón 17	CGACTTCTCTTGTTGAACTAT	52	7353	7372	219
25	532792	2394	2413	Exón 17	ATGAAACGACTTCTCTTGTTG	16	7359	7378	220
	532793	2400	2419	Unión Exón 17-18	ACTTGAATGAAACGACTTCT	45	7365	7384	221
30	532794	2406	2425	Unión Exón 17-18	ACACCAACTTGAATGAAACG	18	n/a	n/a	222
	532795	2427	2446	Exón 18	TCCACTACTCCCCAGCTGAT	30	7662	7681	223
	532796	2433	2452	Exón 18	CAGACATCCACTACTCCCCA	38	7668	7687	224
35	532797	2439	2458	Exón 18	TTTTTGCAGACATCCACTAC	35	7674	7693	225
	532798	2445	2464	Exón 18	TTCTGGTTTTTGCAGACATC	45	7680	7699	226
	532799	2451	2470	Exón 18	TGCCGCTTCTGGTTTTTGCA	47	7686	7705	227
	532800	2457	2476	Exón 18	TGCTTTTGCCTTCTGGTT	61	7692	7711	228
40	532801	2463	2482	Exón 18	GGTACCTGCTTTTGCCTT	47	7698	7717	229
	532802	2469	2488	Exón 18	TGAGCAGGTACCTGCTTTTG	31	7704	7723	230
	532803	2517	2536	Exón 18	TTCAGCCAGGGCAGCACTTG	41	7752	7771	231
	532804	2523	2542	Exón 18	TTCTCCTTTCAGCCAGGGCAG	44	7758	7777	232
45	532805	2529	2548	Exón 18	TGGAGTTTCTCCTTCAGCCA	46	7764	7783	233
	532806	2535	2554	Exón 18	TCATCTTGGAGTTTCTCCTT	49	7770	7789	234
	532807	2541	2560	Exón 18	AAATCCTCATCTTGGAGTTT	30	7776	7795	235
	532808	2547	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCATCTTG	20	7782	7801	236
	532809	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	65	7806	7825	237
50	532810	2577	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	74	7812	7831	238
	532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATCAATCCC	96	7834	7853	239

Tabla 127

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	% de inhibición	SEQ ID NO:	
55	532841	n/a	n/a	Intrón 6-Exón 7	AACTTGCCACCTGTGGGTGA	4142	4161	11	240
60	532842	n/a	n/a	Exón 15-Intrón 15	TCACCTTATCCCCATTCTTG	7007	7026	16	241
65									

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2									
	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	% de inhibición	SEQ ID NO:
5	532843	n/a	n/a	Intrón 11	TCAACTTTCACAAACCACCA	6015	6034	19	242
10	532844	n/a	n/a	Intrón 16 - Exón 17	CCGCCAGAATCACCTGCAAG	7326	7345	33	243
	532845	n/a	n/a	Intrón 10	AGGAGGAATGAAGAAGGCTT	5431	5450	29	244
	532846	n/a	n/a	Intrón 13	GCCTTTCCTCAGGGATCTGG	6561	6580	26	245
	532847	n/a	n/a	Intrón 4	AAATGTCTGGGAGTGTCAAG	3477	3496	18	246
15	532848	n/a	n/a	Intrón 15	GCCTAGAGTGCCTCCTTAGG	7038	7057	20	247
	532849	n/a	n/a	Intrón 17	GGCATCTCCCCAGATAGGAA	7396	7415	16	248
	532850	n/a	n/a	Intrón 6	AGGGAGCTAGTCCTGGAAGA	3906	3925	14	249
20	532851	n/a	n/a	Intrón 1 - Exón 2	ACACCTGAAGAGAAAGGCTG	2135	2154	6	250
	532852	n/a	n/a	Intrón 7	CCCTTTGACCACAAAGTGGC	4462	4481	25	251
	532853	n/a	n/a	Intrón 7	GCCCTCAAGGTAGTCTCATG	4354	4373	26	252
	532854	n/a	n/a	Intrón 6	AAGGGAAGGAGGACAGAATA	3977	3996	18	253
25	532855	n/a	n/a	Intrón 1	AAAGGCCAAGGAGGGATGCT	2099	2118	9	254
	532856	n/a	n/a	Exón 8 - Intrón 8	AGAGGTCCCTTCTGACCATC	4736	4755	4	255
	532857	n/a	n/a	Intrón 8	GCTGGGACAGGAGAGAGGTC	4749	4768	0	256
	532858	n/a	n/a	Intrón 4	TCAAATGTCTGGGAGTGTCA	3479	3498	13	257
30	532859	n/a	n/a	Intrón 10	AGAAGGAGAATGTGCTGAAA	5801	5820	20	258
	532860	n/a	n/a	Intrón 17	TGCTGACCACTTGGCATCTC	7408	7427	20	259
	532861	n/a	n/a	Intrón 11	CAACTTTCACAAACCACCAT	6014	6033	18	260
	532862	n/a	n/a	Intrón 10	AGCTCTGTGATTCTAAGGTT	5497	5516	15	261
35	532863	n/a	n/a	Intrón 6 - Exón 7	CCACCTGTGGGTGAGGAGAA	4136	4155	16	262
	532864	n/a	n/a	Exón 17 - Intrón 17	GAGGACTCACTTGAATGAAA	7373	7392	21	263
40	532865	n/a	n/a	Intrón 6	TGGAATGATCAGGGAGCTAG	3916	3935	30	264
	532866	n/a	n/a	Intrón 5	GTCCCTTCTCCATTTTCCCC	3659	3678	26	265
	532867	n/a	n/a	Intrón 7	TCAACTTTTTAAGTTAATCA	4497	4516	14	266
	532868	n/a	n/a	Intrón 6	GGGTGAGGAGAACAAGGCGC	4128	4147	21	267
	532869	n/a	n/a	Intrón 7	CTTCCAAGCCATCTTTAAC	4553	4572	5	268
45	532870	n/a	n/a	Exón 17 - Intrón 17	AGGACTCACTTGAATGAAAC	7372	7391	18	269
	532871	n/a	n/a	Intrón 10	TTCCAGGCAACTAGAGCTTC	5412	5431	15	270
	532872	n/a	n/a	Exón 1	CAGAGTCCAGCCACTGTTTG	1557	1576	13	271
50	532873	n/a	n/a	Intrón 17 - Exón 18	CCAACCTGCAGAGGCAGTGG	7638	7657	23	272
	532874	n/a	n/a	Intrón 16	TGCAAGGAGAGGAGAAGCTG	7312	7331	10	273
	532875	n/a	n/a	Exón 9 - Intrón 9	CTAGGCAGGTTACTCACCCA	5120	5139	21	274
55	532876	n/a	n/a	Intrón 6 - Exón 7	CACCATAACTTGCCACCTGT	4148	4167	41	275
	532877	n/a	n/a	Intrón 12	TAGGTACCACCTCTTTGTGG	6363	6382	27	276
	532878	n/a	n/a	Intrón 11	CTTGACCTCACCTCCCCAA	5954	5973	13	277
60	532879	n/a	n/a	Intrón 12	CCACCTCTTTGTGGGCAGCT	6357	6376	33	278
	532880	n/a	n/a	Intrón 11	TTCACAAACCACCATCTCTT	6009	6028	8	279
	532881	n/a	n/a	Exón 3 - Intrón 3	TTCTCACCTCCGTTGTCACA	2958	2977	17	280
65	532882	n/a	n/a	Intrón 12	GAAAGTGGGAGGTGTTGCCT	6225	6244	19	281

ES 2 745 825 T3

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	% de inhibición	SEQ ID NO:
532883	n/a	n/a	Intrón 1	ACAGCAGGAAGGGAAGGTTA	2075	2094	34	282
532884	n/a	n/a	Intrón 17	CATGCTGACCACTTGGCATC	7410	7429	18	283
532885	n/a	n/a	Exón 4 - Intrón 4	GGTCACCTTGGCAGGAAGGC	3286	3305	0	284
532886	n/a	n/a	Intrón 8	GTATAGTGTTACAAGTGGAC	4804	4823	13	285
532887	n/a	n/a	Intrón 7	GGACTTCCCTTTGACCACAA	4468	4487	18	286
532888	n/a	n/a	Intrón 11	TCACCTTGACCTCACCTCCC	5958	5977	20	287
532889	n/a	n/a	Intrón 15	TAGAGTGCCTCCTTAGGATG	7035	7054	27	288
532890	n/a	n/a	Intrón 7	TGACTTCAACTTGTGGTCTG	4605	4624	16	289
532891	n/a	n/a	Intrón 10	CAGAGAAGGAGAATGTGCTG	5804	5823	25	290
532892	n/a	n/a	Intrón 14 - Exón 15	AGGGAGCAGCTTTCCTCTG	6919	6938	47	291
532893	n/a	n/a	Intrón 5 - Exón 6	TGTTCCCCTGGGTGCCAGGA	3710	3729	24	292
532894	n/a	n/a	Intrón 10	GGCCTGGCTGTTTTCAAGCC	5612	5631	15	293
532895	n/a	n/a	Intrón 10 - Exón 11	GACTGGCTTTCATCTGGCAG	5821	5840	25	294
532896	n/a	n/a	Intrón 10	GAAGGCTTTCAGGCAACTA	5419	5438	19	295
532897	n/a	n/a	Exón 17 - Intrón 17	TCACTTGAATGAAACGACTT	7367	7386	11	296
532898	n/a	n/a	Intrón 1	GGCCCCAAAAGGCCAAGGAG	2106	2125	5	297
532899	n/a	n/a	Intrón 16 - Exón 17	AATCACCTGCAAGGAGAGGA	7319	7338	19	298
532900	n/a	n/a	Intrón 12	GACCTTCAGTTGCATCCTTA	6183	6202	25	299
532901	n/a	n/a	Intrón 1	TGATGAAGCCTGGCCCCAAA	2117	2136	0	300
532902	n/a	n/a	Intrón 12	TAGAAAGTGGGAGGTGTTGC	6227	6246	0	301
532903	n/a	n/a	Intrón 12	CCCATCCCTGACTGGTCTGG	6295	6314	14	302
532904	n/a	n/a	Intrón 8	CCATGGGTATAGTGTTACAA	4810	4829	13	303
532905	n/a	n/a	Intrón 2	GTGTTCTCTTGACTTCCAGG	2586	2605	23	304
532906	n/a	n/a	Intrón 13	GGCCTGCTCCTCACCCCAGT	6597	6616	27	305
532907	n/a	n/a	Intrón 10	GAGGCCTGGCTGTTTTCAAG	5614	5633	32	306
532908	n/a	n/a	Exón 1	GACTCTCCCCTTCAGTACCT	1677	1696	16	307
532909	n/a	n/a	Intrón 8	CATGGGTATAGTGTTACAAG	4809	4828	10	308
532910	n/a	n/a	Intrón 10	GAAGGAGAATGTGCTGAAAA	5800	5819	0	309
532911	n/a	n/a	Intrón 7	TCACCTGGTCTTCCAAGCCA	4562	4581	0	310
532912	n/a	n/a	Intrón 17	CTCCCCAGATAGGAAAGGGA	7391	7410	0	311
532913	n/a	n/a	Exón 17 - Intrón 17	GGACTCACTTGAATGAAACG	7371	7390	0	312
532914	n/a	n/a	Intrón 16 - Exón 17	GGCCGCCAGAATCACCTGCA	7328	7347	30	313
532915	n/a	n/a	Exón 17 - Intrón 17	CTCACTTGAATGAAACGACT	7368	7387	22	314
532916	n/a	n/a	Intrón 13	CTTCCCAGCCTTTCCTCAG	6569	6588	28	315
532918	n/a	n/a	Intrón 12	AGAAAGTGGGAGGTGTTGCC	6226	6245	3	316
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	7839	7858	90	317

Tabla 128

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

Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	% de inhibición	SEQ ID NO:
5	532919	n/a	Exón 1	CCAGGACTCTCCCCTTCAGT	1681	1700	4	318
10	532920	n/a	Intrón 6	AGGGAAGGAGGACAGAATAG	3976	3995	25	319
10	532921	n/a	Intrón 4	GAAATGAGGTCAAATGTCTG	3488	3507	30	320
10	532922	n/a	Intrón 4	GGAGAGTCAGAAATGAGGTC	3497	3516	25	321
10	532923	n/a	Intrón 12	GTAGAAAAGTGGGAGGTGTTG	6228	6247	26	322
15	532924	n/a	Intrón 10	TAGAAAGATCTCTGAAGTGC	5521	5540	24	323
15	532925	n/a	Intrón 13	CTGCTCCTCACCCCAGTCCT	6594	6613	26	324
15	532926	n/a	Intrón 11	CTACTGGGATTCTGTGCTTA	5927	5946	30	325
15	532927	n/a	Intrón 1	CCCCAAAAGCCAAGGAGGGA	2103	2122	13	326
20	532928	n/a	Intrón 17	TGACCACTTGGCATCTCCCC	7405	7424	27	327
20	532929	n/a	Intrón 16 - Exón 17	CCTGCAAGGAGAGGAGAAGC	7314	7333	29	328
25	532930	n/a	Exón 16 - Intrón 16	CTCTCACCTCTGCAAGTATT	7239	7258	44	329
25	532931	n/a	Intrón 1	CCCCAAAAGGCCAAGGAGGG	2104	2123	21	330
25	532932	n/a	Intrón 7	GTCTTCCAAGCCATCTTTTA	4555	4574	20	331
25	532933	n/a	Intrón 8	GTTACAAGTGGACTTAAGGG	4797	4816	30	332
30	532934	n/a	Intrón 8 - Exón 9	CCCATGTTGTGCAATCCTGC	5017	5036	30	333
30	532935	n/a	Intrón 15	GAGGTGGGAAGCATGGAGAA	7091	7110	17	334
30	532936	n/a	Intrón 14	TGCTCCCACCACTGTCACT	6874	6893	21	335
35	532937	n/a	Exón 9 - Intrón 9	AGGCAGGTTACTCACCCAGA	5118	5137	18	336
35	532938	n/a	Intrón 11	TACTGGGATTCTGTGCTTAC	5926	5945	15	337
35	532939	n/a	Intrón 13	GCCTTTCCAGCCTTTCCTC	6571	6590	27	338
40	532940	n/a	Intrón 8 - Exón 9	GTGCAATCCTGCAGAAGAGA	5009	5028	21	339
40	532941	n/a	Intrón 8	ACAGGAGAGAGGTCCCTTCT	4743	4762	20	340
40	532942	n/a	Intrón 10	CCCCAAAAGGAGAAAGGGAAA	5717	5736	14	341
40	532943	n/a	Intrón 2	AAGCCCAGGGTAAATGCTTA	2557	2576	32	342
40	532944	n/a	Intrón 1	GATGAAGCCTGGCCCCAAA	2116	2135	22	343
45	532945	n/a	Intrón 10	TGGCAGAGAAGGAGAATGTG	5807	5826	22	344
45	532946	n/a	Intrón 13	TTCCCAGCCTTTCCTCAGGG	6567	6586	35	345
45	532947	n/a	Intrón 10	GGCAGAGAAGGAGAATGTGC	5806	5825	30	346
45	532948	n/a	Intrón 10	ACAGTGCCAGGAAACAAGAA	5471	5490	25	347
50	532949	n/a	Exón 9 - Intrón 9	TAGGCAGGTTACTCACCCAG	5119	5138	22	348
50	532950	n/a	Intrón 2	TTCTCTTGACTTCCAGGGCT	2583	2602	22	349
50	532951	n/a	Intrón 13	CCTGCTCCTCACCCCAGTCC	6595	6614	16	350
55	532953	n/a	Intrón 7	TCCACTAACCTCCATTGCC	4422	4441	14	351
55	532954	n/a	Intrón 7	TTCCCTTTGACCACAAAGTG	4464	4483	16	352
55	532955	n/a	Intrón 9	CTGGGTCCTAGGCAGGTAC	5127	5146	30	353
55	532956	n/a	Intrón 10	TCCAGGCAACTAGAGCTTCA	5411	5430	20	354
60	532957	n/a	Intrón 8 - Exón 9	GCCCATGTTGTGCAATCCTG	5018	5037	45	355
60	532958	n/a	Intrón 7	GGTTCCTACTAACCTCCATT	4425	4444	18	356
60	532959	n/a	Intrón 3	AGGTAGAGAGCAAGAGTTAC	3052	3071	26	357
60	532960	n/a	Intrón 7	CCACTAACCTCCATTGCCCA	4420	4439	10	358
65	532961	n/a	Intrón 11	TCACAAACCACCATCTCTTA	6008	6027	40	359

(continuación)

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

	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	% de inhibición	SEQ ID NO:
5	532962	n/a	n/a	Exón 9 - Intrón 9	TACTCACCCAGATAATCCTC	5110	5129	27	360
10	532963	n/a	n/a	Intrón 13	TGCTCCTCACCCAGTCTC	6593	6612	24	361
	532964	n/a	n/a	Intrón 15 - Exón 16	TCTCACAGCTGCCTTTCTGT	7115	7134	25	362
15	532965	n/a	n/a	Exón 17 - Intrón 17	GAAAGGGAGGACTCACTTGA	7379	7398	11	363
	532966	n/a	n/a	Intrón 7	CCATCTTTTAACCCAGAGA	4545	4564	18	364
	532967	n/a	n/a	Intrón 13	TCCTCACCCAGTCTCCAG	6590	6609	27	365
	532968	n/a	n/a	Intrón 10	CTGGCAGAGAAGGAGAATGT	5808	5827	15	366
20	532969	n/a	n/a	Intrón 17	TCTCCCAGATAGGAAAGGG	7392	7411	23	367
	532970	n/a	n/a	Intrón 14	ACTTCAGCTGCTCCCACCAC	6882	6901	18	368
	532971	n/a	n/a	Intrón 1	GACAGCAGGAAGGGAAGGTT	2076	2095	13	369
	532972	n/a	n/a	Intrón 13 - Exón 14	GGAGACAAATGGGCCTATAA	6640	6659	33	370
25	532973	n/a	n/a	Intrón 14	CTGCTCCCACCACTGTCATC	6875	6894	11	371
	532974	n/a	n/a	Intrón 10	AGGAATGAAGAAGGCTTTCC	5428	5447	21	372
	532975	n/a	n/a	Intrón 14	GGGATCTCATCCTTATCCTC	6741	6760	31	373
	532976	n/a	n/a	Intrón 9	GTGCTGGGTCTTAGGCAGGT	5130	5149	16	374
30	532977	n/a	n/a	Intrón 1	CAAAGGCCAAGGAGGGATG	2101	2120	14	375
	532978	n/a	n/a	Intrón 17	CCATGCTGACCACTTGGCAT	7411	7430	20	376
	532979	n/a	n/a	Intrón 8	GGAGGCTGGGACAGGAGAGA	4753	4772	25	377
	532980	n/a	n/a	Intrón 14 - Exón 15	GGAGCAGCTCTTCTCTGGA	6917	6936	36	378
35	532981	n/a	n/a	Exón 3 - Intrón 3	TCTCACCTCCGTTGTCACAG	2957	2976	20	379
	532982	n/a	n/a	Intrón 13	CAGTCTCCAGCCTTTCCCA	6581	6600	21	380
40	532983	n/a	n/a	Intrón 13	AGTCTCCAGCCTTTCCAG	6580	6599	22	381
	532984	n/a	n/a	Intrón 4 - Exón 5	TGAAGGAGTCTGGGAGAGTC	3509	3528	12	382
	532985	n/a	n/a	Intrón 16 - Exón 17	CAGAATCACCTGCAAGGAGA	7322	7341	20	383
45	532986	n/a	n/a	Exón 17 - Intrón 17	TAGGAAAGGGAGGACTCACT	7382	7401	3	384
	532987	n/a	n/a	Exón 4 - Intrón 4	ACCTTGGCAGGAAGGCTCCG	3282	3301	12	385
50	532988	n/a	n/a	Intrón 13 - Exón 14	GAGACAAATGGGCCTATAAA	6639	6658	15	386
	532989	n/a	n/a	Intrón 1	CTGAAGAGAAAGGCTGATGA	2131	2150	17	387
	532990	n/a	n/a	Intrón 6	AATGATCAGGGAGCTAGTCC	3913	3932	30	388
	532991	n/a	n/a	Intrón 17	CTTAGCTGACCTAAAGGAAT	7557	7576	22	389
55	532992	n/a	n/a	Intrón 8	TGGGTATAGTGTACAAGTG	4807	4826	17	390
	532993	n/a	n/a	Intrón 1	TGAAGAGAAAGGCTGATGAA	2130	2149	19	391
	532994	n/a	n/a	Intrón 8	GTGTTACAAGTGGACTTAAG	4799	4818	25	392
	532995	n/a	n/a	Intrón 6	ACCTGTGGGTGAGGAGAACA	4134	4153	24	393
60	532996	n/a	n/a	Exón 9 - Intrón 9	TCACCCAGATAATCCTCCCT	5107	5126	36	394
	532952	2608	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTTAA	7843	7862	90	395

65

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	% de inhibición	SEQ ID NO:
532962	n/a	n/a	Exón 9 - Intrón 9	TACTCACCCAGATAATCCTC	5110	5129	27	360
532963	n/a	n/a	Intrón 13	TGCTCCTCACCCAGTCTC	6593	6612	24	361
532964	n/a	n/a	Intrón 15 - Exón 16	TCTCACAGCTGCCTTTCTGT	7115	7134	25	362
532965	n/a	n/a	Exón 17 - Intrón 17	GAAAGGGAGGACTCACTTGA	7379	7398	11	363
532966	n/a	n/a	Intrón 7	CCATCTTTTAACCCAGAGA	4545	4564	18	364
532967	n/a	n/a	Intrón 13	TCCTCACCCAGTCTCCAG	6590	6609	27	365
532968	n/a	n/a	Intrón 10	CTGGCAGAGAAGGAGAATGT	5808	5827	15	366
532969	n/a	n/a	Intrón 17	TCTCCCAGATAGGAAAGGG	7392	7411	23	367
532970	n/a	n/a	Intrón 14	ACTTCAGCTGCTCCCACCAC	6882	6901	18	368
532971	n/a	n/a	Intrón 1	GACAGCAGGAAGGGAAGGTT	2076	2095	13	369
532972	n/a	n/a	Intrón 13 - Exón 14	GGAGACAAATGGGCCTATAA	6640	6659	33	370
532973	n/a	n/a	Intrón 14	CTGCTCCCACCACTGTCATC	6875	6894	11	371
532974	n/a	n/a	Intrón 10	AGGAATGAAGAAGGCTTTCC	5428	5447	21	372
532975	n/a	n/a	Intrón 14	GGGATCTCATCCTTATCCTC	6741	6760	31	373
532976	n/a	n/a	Intrón 9	GTGCTGGGTCTAGGCAGGT	5130	5149	16	374
532977	n/a	n/a	Intrón 1	CAAAGGCCAAGGAGGGATG	2101	2120	14	375
532978	n/a	n/a	Intrón 17	CCATGCTGACCACTTGGCAT	7411	7430	20	376
532979	n/a	n/a	Intrón 8	GGAGGCTGGGACAGGAGAGA	4753	4772	25	377
532980	n/a	n/a	Intrón 14 - Exón 15	GGAGCAGCTCTTCTCTGGA	6917	6936	36	378
532981	n/a	n/a	Exón 3 - Intrón 3	TCTCACCTCCGTTGTCACAG	2957	2976	20	379
532982	n/a	n/a	Intrón 13	CAGTCTCCAGCCTTTCCCA	6581	6600	21	380
532983	n/a	n/a	Intrón 13	AGTCTCCAGCCTTTCCAG	6580	6599	22	381
532984	n/a	n/a	Intrón 4 - Exón 5	TGAAGGAGTCTGGGAGAGTC	3509	3528	12	382
532985	n/a	n/a	Intrón 16 - Exón 17	CAGAATCACCTGCAAGGAGA	7322	7341	20	383
532986	n/a	n/a	Exón 17 - Intrón 17	TAGGAAAGGGAGGACTCACT	7382	7401	3	384
532987	n/a	n/a	Exón 4 - Intrón 4	ACCTTGGCAGGAAGGCTCCG	3282	3301	12	385
532988	n/a	n/a	Intrón 13 - Exón 14	GAGACAAATGGGCCTATAAA	6639	6658	15	386
532989	n/a	n/a	Intrón 1	CTGAAGAGAAAGGCTGATGA	2131	2150	17	387
532990	n/a	n/a	Intrón 6	AATGATCAGGGAGCTAGTCC	3913	3932	30	388
532991	n/a	n/a	Intrón 17	CTTAGCTGACCTAAAGGAAT	7557	7576	22	389
532992	n/a	n/a	Intrón 8	TGGGTATAGTGTACAAGTG	4807	4826	17	390
532993	n/a	n/a	Intrón 1	TGAAGAGAAAGGCTGATGAA	2130	2149	19	391
532994	n/a	n/a	Intrón 8	GTGTTACAAGTGGACTTAAG	4799	4818	25	392
532995	n/a	n/a	Intrón 6	ACCTGTGGGTGAGGAGAACA	4134	4153	24	393
532996	n/a	n/a	Exón 9 - Intrón 9	TCACCCAGATAATCCTCCCT	5107	5126	36	394
532952	2608	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTTAA	7843	7862	90	395

Ejemplo 116: Inhibición antisentido del Factor B del Complemento humano (CFB) en células HepG2 por gapmers de MOE

Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos al ácido nucleico del Factor B del Complemento humano (CFB) y se probaron sus efectos sobre el ARNm de CFB in vitro. Se transfectoron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con un oligonucleótido antisentido 4.500 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de sondas de cebador humano RTS3460_MGB (secuencia directa CGAAGCAGCTCAATGAAATCAA, designada en la presente como SEQ ID NO: 813; secuencia inversa TGCCTGGAGGGCCTTCTT, designada en la presente como SEQ ID NO: 814; secuencia de sonda AGACCACAAGTTGAAGTC, designada en la presente como SEQ ID NO: 815) para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control sin tratar.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos de nuevo diseño en las Tablas siguientes se diseñaron como gapmers de 5-10-5 MOE. Los gapmers de 5-10-5 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central está compuesto de diez 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Cada nucleósido en el segmento del ala 5' y cada nucleósido en el segmento del ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina a lo largo de cada gapmer son 5-metilcitosinas. "Sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que se dirige el gapmer en la secuencia genética humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más 3' al que se dirige el gapmer en la secuencia genética humana. Cada gapmer enumerado en las Tablas siguientes se dirige al ARNm de CFB humano, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de Acceso de GENBANK NM_001710.5) o a la secuencia genómica del CFB humano, designada en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de Acceso de GENBANK NT_007592015 truncado a partir de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o ambos. 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no está dirigido a esa secuencia genética particular con un 100% de complementariedad

Tabla 129

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:
532686	1135	1154	Exón 6	ACACTTTTTGGCTCCTGTGA	48	3819	3838	84
532687	1141	1160	Exón 6	GACTAGACACTTTTTGGCTC	63	3825	3844	85
532688	1147	1166	Exón 6	TAAGTTGACTAGACACTTTT	47	3831	3850	86
532689	1153	1172	Exón 6	CTCAATTAAGTTGACTAGAC	57	3837	3856	87
532690	1159	1178	Unión Exón 6-7	CACCTTCTCAATTAAGTTGA	49	3843	3862	88
532691	1165	1184	Unión Exón 6-7	ACTTGCCACCTTCTCAATTA	33	n/a	n/a	89
532692	1171	1190	Unión Exón 6-7	ACCATAACTTGCCACCTTCT	67	n/a	n/a	90
532693	1177	1196	Exón 7	CTTCACACCATAACTTGCCA	56	4153	4172	91
532694	1183	1202	Exón 7	TCTTGGCTTCACACCATAAC	50	4159	4178	92
532695	1208	1227	Exón 7	ATGTGGCATATGCTACTAGA	53	4184	4203	93
532696	1235	1254	Exón 7	CAGACACTTTGACCCAAATT	52	4211	4230	94
532697	1298	1317	Unión Exón 7-8	GGTCTTCATAATTGATTCA	59	n/a	n/a	95
532698	1304	1323	Unión Exón 7-8	ACTTGTGGTCTTCATAATTG	52	n/a	n/a	96
532699	1310	1329	Unión Exón 7-8	ACTTCAACTTGTGGTCTTCA	85	n/a	n/a	97
532700	1316	1335	Exón 8	TCCCTGACTTCAACTTGTGG	96	4609	4628	98
532701	1322	1341	Exón 8	TGTTAGTCCCTGACTTCAAC	56	4615	4634	99
532702	1328	1347	Exón 8	TCTTGGTGTAGTCCCTGAC	86	4621	4640	100
532703	1349	1368	Exón 8	TGTACTGCCTGGAGGGCC	35	4642	4661	101
532704	1355	1374	Exón 8	TCATGCTGTACTGCCTGG	12	4648	4667	102
532705	1393	1412	Exón 8	GTTCCAGCCTTCAGGAGGGA	27	4686	4705	103
532706	1399	1418	Exón 8	GGTGCGGTTCCAGCCTTCCAG	67	4692	4711	104
532707	1405	1424	Exón 8	ATGGCGGGTGCAGTCCAGC	26	4698	4717	105

ES 2 745 825 T3

(continuación)

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

	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:
5	532708	1411	1430	Exón 8	GATGACATGGCGGGTGC	28	4704	4723	106
	532709	1417	1436	Exón 8	GAGGATGATGACATGGCGGG	6	4710	4729	107
10	532710	1443	1462	Unión Exón 8-9	CCCATGTTGTGCAATCCATC	35	n/a	n/a	108
	532711	1449	1468	Exón 9	TCCCCGCCCATGTTGTGCAA	28	5023	5042	109
	532712	1455	1474	Exón 9	ATTGGGTCCCCGCCCATGTT	19	5029	5048	110
15	532713	1461	1480	Exón 9	ACAGTAATTGGGTCCCCGCC	29	5035	5054	111
	532714	1467	1486	Exón 9	TCAATGACAGTAATTGGGTGTC	49	5041	5060	112
	532715	1473	1492	Exón 9	ATCTCATCAATGACAGTAAT	45	5047	5066	113
	532716	1479	1498	Exón 9	TCCCGGATCTCATCAATGAC	54	5053	5072	114
20	532717	1533	1552	Unión Exón 9-10	ACATCCAGATAATCCTCCCT	22	n/a	n/a	115
	532718	1539	1558	Unión Exón 9-10	ACATAGACATCCAGATAATC	8	n/a	n/a	116
25	532719	1545	1564	Unión Exón 9-10	CCAAACACATAGACATCCAG	30	n/a	n/a	117
	532720	1582	1601	Exón 10	AGCATTGATGTTCACTTGGT	62	5231	5250	118
	532721	1588	1607	Exón 10	AGCCAAAGCATTGATGTTCA	46	5237	5256	119
	532722	1594	1613	Exón 10	CTTGAAGCCAAAGCATTGA	35	5243	5262	120
30	532723	1600	1619	Exón 10	GTCTTTCTTGAAGCCAAAG	43	5249	5268	121
	532724	1606	1625	Exón 10	CTCATTGTCTTTCTTGAAG	40	5255	5274	122
	532725	1612	1631	Exón 10	ATGTTGCTCATTGTCTTTCT	49	5261	5280	123
	532726	1618	1637	Exón 10	GAACACATGTTGCTCATTGT	68	5267	5286	124
35	532727	1624	1643	Exón 10	GACTTTGAACACATGTTGCT	54	5273	5292	125
	532728	1630	1649	Exón 10	ATCCTTGACTTTGAACACAT	61	5279	5298	126
	532729	1636	1655	Exón 10	TTCCATATCCTTGACTTTGA	55	5285	5304	127
	532730	1642	1661	Exón 10	CAGGTTTTCCATATCCTTGA	51	5291	5310	440
40	532731	1686	1705	Unión Exón 10-11	CTCAGAGACTGGCTTTCATC	41	5827	5846	129
	532732	1692	1711	Exón 11	CAGAGACTCAGAGACTGGCT	59	5833	5852	130
	516252	1698	1717	Exón 11	ATGCCACAGAGACTCAGAGA	57	5839	5858	131
45	532733	1704	1723	Exón 11	CAAACCATGCCACAGAGACT	34	5845	5864	132
	532734	1710	1729	Exón 11	TGTTCCCAAACCATGCCACA	51	5851	5870	133
	532735	1734	1753	Exón 11	TTGTGGTAATCGGTACCCTT	50	5875	5894	134
	532736	1740	1759	Exón 11	GGTTGCTTGTGGTAATCGGT	64	5881	5900	135
	532737	1746	1765	Exón 11	TGCCATGGTTGCTTGTGGTA	40	5887	5906	136
50	532738	1752	1771	Exón 11	TTGGCCTGCCATGGTTGCTT	49	5893	5912	137
	532739	1758	1777	Exón 11	GAGATCTTGGCCTGCCATGG	47	5899	5918	138
	532740	1803	1822	Exón 12	ACAGCCCCCATACAGCTCTC	48	6082	6101	139
	532741	1809	1828	Exón 12	GACACCACAGCCCCATACA	40	6088	6107	140
55	532742	1815	1834	Exón 12	TACTCAGACACCACAGCCCC	33	6094	6113	141
	532743	1821	1840	Exón 12	ACAAAGTACTCAGACACCAC	39	6100	6119	142
	532744	1827	1846	Exón 12	GTCAGCACAAAGTACTCAGA	45	6106	6125	143
	532745	1872	1891	Exón 12	TTGATTGAGTGTTCTTGTGTC	42	6151	6170	144
60	532746	1878	1897	Exón 12	CTGACCTTGATTGAGTGTTGTC	53	6157	6176	145
	532747	1909	1928	Exón 13	TATCTCCAGGTCCCGCTTCT	31	6403	6422	146
	532748	1967	1986	Exón 13	GAATTCCTGCTTCTTTTTTC	30	6461	6480	147
	532749	1973	1992	Exón 13	ATTCAGGAATTCCTGCTTCT	40	6467	6486	148
65	532750	1979	1998	Exón 13	CATAAAATTCAGGAATTCCT	45	6473	6492	149

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:
532751	1985	2004	Exón 13	CATAGTCATAAAATTCAGGA	43	6479	6498	150
532752	2006	2025	Exón 13	TGAGCTTGATCAGGGCAACG	61	6500	6519	151
532753	2012	2031	Exón 13	TATTCTTGAGCTTGATCAGG	47	6506	6525	152
532754	2048	2067	Unión Exón 13-14	GACAAATGGGCCTGATAGTC	35	n/a	n/a	153
532755	2070	2089	Exón 14	GTTGTTCCCTCGGTGCAGGG	43	6659	6678	154
532756	2076	2095	Exón 14	GCTCGAGTTGTTCCCTCGGT	51	6665	6684	155
532757	2082	2101	Exón 14	CTCAAAGCTCGAGTTGTTCC	36	6671	6690	156
532758	2088	2107	Exón 14	GGAAGCCTCAAAGCTCGAGT	54	6677	6696	157
532759	2094	2113	Exón 14	GTTGGAGGAAGCCTCAAAGC	52	6683	6702	158
532760	2100	2119	Exón 14	GTGGTAGTTGGAGGAAGCCT	22	6689	6708	159
532761	2106	2125	Exón 14	TGGCAAGTGGTAGTTGGAGG	34	6695	6714	160
532762	2112	2131	Exón 14	TGTTGCTGGCAAGTGGTAGT	52	6701	6720	161

25 Ejemplo 117: Inhibición antisentido del Factor B del Complemento humano (CFB) en células HepG2 por gapmers de MOE

30 Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos al ácido nucleico del Factor B del Complemento humano (CFB) y se probaron sus efectos sobre el ARNm de CFB in vitro. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 5.000 nM. Después de un periodo de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de sondas de cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo al contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control no tratadas.

40 Los oligonucleótidos antisentido quiméricos de nuevo diseño en las Tablas siguiente se diseñaron como gapmers de 5-10-5 MOE. Los gapmers tienen una longitud de 20 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central consiste de diez 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' comprendiendo cinco nucleósidos cada uno. Cada nucleósido en el segmento del ala 5' y cada nucleósido en el segmento del ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina a lo largo de cada gapmer son 5-metilcitosinas. "Sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que se dirige el gapmer en la secuencia genética humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más 3' al que se dirige el gapmer en la secuencia genética humana. Cada gapmer enumerado en las Tablas siguientes está dirigido al ARNm de CFB humano, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de Acceso de GENBANK NM_001710.5) o a la secuencia genómica del CFB humano, designado en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de Acceso de GENBANK NT_007592.15 truncado a partir de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o ambos. 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia genética en particular con un 100% de complementariedad. En caso de que no se muestre la alineación de la secuencia para un gen objetivo en una tabla particular, se entiende que ninguno de los oligonucleótidos presentados en esa tabla se alinea con una complementariedad del 100% con ese gen objetivo.

55 **Tabla 130**

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1						
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO:
588570	150	169	Exón 1	TGGTCACATTCCCTTCCCCT	54	396
588571	152	171	Exón 1	CCTGGTCACATTCCCTTCCC	63	397
532614	154	173	Exón 1	GACCTGGTCACATTCCCTTC	64	12
588572	156	175	Exón 1	TAGACCTGGTCACATTCCCT	62	398

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1							
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO:	
5	588573	158	177	Exón 1	CCTAGACCTGGTCACATTCC	53	399
10	588566	2189	2208	Exón 15	CCTTCCGAGTCAGCTTTTTTC	60	400
10	588567	2191	2210	Exón 15	CTCCTTCCGAGTCAGCTTTTT	61	401
10	532770	2193	2212	Exón 15	ACCTCCTTCCGAGTCAGCTT	77	198
10	588568	2195	2214	Exón 15	AGACCTCCTTCCGAGTCAGC	72	402
10	588569	2197	2216	Exón 15	GTAGACCTCCTTCCGAGTCA	46	403
15	588574	2453	2472	Exón 18	TTTGCCGCTTCTGGTTTTTG	46	404
15	588575	2455	2474	Exón 18	CTTTTGCCGCTTCTGGTTTT	41	405
15	532800	2457	2476	Exón 18	TGCTTTTGCCGCTTCTGGTT	69	228
15	588576	2459	2478	Exón 18	CCTGCTTTTGCCGCTTCTGG	61	406
20	588577	2461	2480	Exón 18	TACCTGCTTTTGCCGCTTCT	51	407
20	516350	2550	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTCATC	71	408
20	588509	2551	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTCAT	58	409
20	588510	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	57	410
25	588511	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	57	411
25	588512	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	44	412
25	588513	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	37	413
25	588514	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	50	414
30	588515	2557	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	45	415
30	588516	2558	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAA	60	416
30	588517	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	67	417
30	588518	2560	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCCA	57	418
35	588519	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	61	419
35	588520	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	27	420
35	588521	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	25	421
35	588522	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAA	36	422
40	588523	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	36	423
40	588524	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	46	424
40	588525	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	38	425
40	588526	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	47	426
40	588527	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	68	427
45	588528	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	63	428
45	532809	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	85	237
45	588529	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	76	429
45	588530	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	74	430
50	588531	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCCC	75	431
50	588532	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	73	432
50	588533	2576	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACC	82	433
50	532810	2577	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	88	238
55	588534	2578	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAAA	86	434
55	588535	2579	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGAA	86	435
55	588536	2580	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGGA	93	436
55	588537	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAGG	92	437
55	588538	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCAG	94	438
60	588539	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGCA	96	439
60	588540	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAGC	88	440
60	588541	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCAG	79	441
65	588542	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCCA	83	442

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gampers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1							
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO:	
5	588543	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	86	443
10	588544	2588	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTGTC	90	444
10	588545	2589	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	92	445
10	588546	2590	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCTG	92	446
10	588547	2591	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCT	88	447
10	588548	2592	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCCC	93	448
15	588549	2593	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	88	449
15	588550	2594	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGCC	89	450
15	588551	2595	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCACGC	94	451
15	588552	2596	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCACG	93	452
20	588553	2597	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCAC	96	453
20	588554	2598	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCCA	98	454
25	532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	97	239
25	532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	95	239
25	588555	2600	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATCC	93	455
25	588556	2601	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAATC	96	456
25	588557	2602	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAAT	98	457
25	588558	2603	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCAA	95	458
30	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	97	317
30	588559	2605	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATTC	95	459
30	588560	2606	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAATT	92	460
30	588561	2607	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTAAT	93	461
35	532952	2608	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTTAA	88	395
35	588562	2609	2628	Exón 18/ Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTTTA	90	462
35	588563	2610	2629	Exón 18/ Repetición	TTTGTTGTCGCAGCTGTTTT	89	463
40	588564	2611	2630	Exón 18/ Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGTTT	92	464
40	588565	2612	2631	Exón 18/ Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTGTT	88	465

45

Tabla 131

Inhibición de ARNm de CFB por gampers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:	
50	588685	n/a	n/a	Exón 1	GGATCCAGCTCACTCCCCTG	48	1596	1615	466
50	588686	n/a	n/a	Exón 1	AAATAAGGATCCAGCTCACT	29	1602	n/a	467
55	588688	n/a	n/a	Exón 1	GACCAGAAATAAGGATCCAG	58	1608	1627	468
55	588690	n/a	n/a	Exón 1	CTTAGGGACCAGAAATAAGG	45	1614	1633	469
55	588692	n/a	n/a	Exón 1	CACCCACTTAGGGACCAGAA	36	1620	1639	470
55	588694	n/a	n/a	Exón 1	ACCACCCACTTAGGGACCAG	47	1622	1641	471
60	588696	n/a	n/a	Exón 1	AGGTCCAGGACTCTCCCCTT	96	1685	1704	472
60	588698	n/a	n/a	Exón 1	AAGGTCCAGGACTCTCCCCT	96	1686	1705	473
60	588700	n/a	n/a	Exón 1	AAACTGCAGAAGTCCCACCC	2	1716	1735	474
65	588586	30	49	Exón 1	GGAGGGCCCCGCTGAGCTGC	59	1751	1770	475
65	588587	48	67	Exón 1	TCCCGGAACATCCAAGCGGG	45	1769	1788	476

ES 2 745 825 T3

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 op SEQ ID NO: 2								
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:
588588	56	75	Exón 1	CATCACTTTCCCGAACATC	39	1777	n/a	477
588589	151	170	Exón 1	CTGGTCACATTCCCTTCCCC	29	1872	1891	478
588590	157	176	Exón 1	CTAGACCTGGTCACATTCCC	47	1878	1897	479
588591	339	358	Unión Exón 1-2	GGAGTGGTGGTCACACCTCC	44	n/a	n/a	480
588592	384	403	Exón 2	ACCCCTCCAGAGAGCAGGA	43	2192	2211	481
588593	390	409	Exón 2	ATCTCTACCCCTCCAGAGA	34	2198	2217	482
588594	467	486	Exón 2	GGTACGGGTAGAAGCCAGAA	17	2275	2294	483
588595	671	690	Exón 3	GGAGAGTGTAAACGTCATAG	37	2879	2898	484
588596	689	708	Exón 3	TGCGATTGGCAGAGCCCGG	18	2897	2916	485
588597	695	714	Exón 3	GGCAGGTGCGATTGGCAGAG	32	2903	2922	486
588598	707	726	Exón 3	GGCCATTCACTTGGCAGGTG	45	2915	2934	487
588599	738	757	Exón 3	TTGTCACAGATCGCTGTCTG	52	2946	2965	488
588600	924	943	Unión Exón 4-5	AAGGAGTCTTGGCAGGAAGG	39	n/a	n/a	489
588601	931	950	Unión Exón 4-5	GTACATGAAGGAGTCTTGGC	37	n/a	n/a	490
588602	959	978	Exón 5	AAGCTTCGGCCACCTCTTGA	21	3542	3561	491
588603	1089	1108	Exón 6	CCATCTAGCACCAGGTAGAT	22	3773	3792	492
588604	1108	1127	Exón 6	GGCCCAATGCTGTCTGATC	21	3792	3811	493
588606	1150	1169	Exón 6	AATTAAGTTGACTAGACACT	56	3834	3853	494
588608	1162	1181	Unión Exón 6-7	TGCCACCTTCTCAATTAAGT	50		19	495
588578	1167	1186	Unión Exón 6-7	TAACTTGCCACCTTCTCAAT	23	n/a	n/a	496
588579	1169	1188	Unión Exón 6-7	CATAACTTGCCACCTTCTCA	23	n/a	n/a	497
532692	1171	1190	Unión Exón 6-7	ACCATAACTTGCCACCTTCT	15	n/a	n/a	90
588580	1173	1192	Unión Exón 6-7	ACACCATAACTTGCCACCTT	16	n/a	n/a	498
588581	1175	1194	Unión Exón 6-7	TCACACCATAACTTGCCACC	14	4151	4170	499
588610	1319	1338	Exón 8	TAGTCCCTGACTTCAACTTG	50	4612	4631	500
588612	1325	1344	Exón 8	TGGTGTAGTCCCTGACTTC	47	4618	4637	501
588614	1396	1415	Exón 8	GCGGTTCCAGCCTTCAGGAG	47	4689	4708	502
588616	1421	1440	Exón 8	TCATGAGGATGATGACATGG	51	4714	4733	503
588618	1446	1465	Exón 9	CCGCCATGTTGTGCAATCC	18	5020	5039	504
588620	1458	1477	Exón 9	GTAATTGGGTCCCCGCCAT	40	5032	5051	505
588623	1482	1501	Exón 9	AAGTCCGGATCTCATCAAT	40	5056	5075	506
588624	1542	1561	Unión Exón 9-10	AACACATAGACATCCAGATA	45	n/a	n/a	507
588626	1585	1604	Exón 10	CAAAGCATTGATGTTCACTT	43	5234	5253	508
588628	1621	1640	Exón 10	TTTGAACACATGTTGCTCAT	45	5270	5289	509
588631	1646	1665	Exón 10	CTTCCAGGTTTTCCATATCC	53	5295	5314	510
588632	1647	1666	Exón 10	TCTTCCAGGTTTTCCATATC	56	5296	5315	511
588634	1689	1708	Exón 11	AGACTCAGAGACTGGCTTTC	35	5830	5849	512
588636	1749	1768	Exón 11	GCCTGCCATGTTGCTTGTG	55	5890	5909	513
588638	1763	1782	Exón 11	TGACTGAGATCTTGGCCTGC	78	5904	5923	514

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gampers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 sitio de parada	Región Objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 sitio de parada	SEQ ID NO:	
5	588640	1912	1931	Exón 13	TTCTATCTCCAGGTCCCGCT	95	6406	6425	515
	588642	1982	2001	Exón 13	AGTCATAAAATTCAGGAATT	44	6476	6495	516
10	588645	2073	2092	Exón 14	CGAGTTGTTCCCTCGGTGCA	40	6662	6681	517
	588646	2085	2104	Exón 14	AGCCTCAAAGCTCGAGTTGT	57	6674	6693	518
	588648	2091	2110	Exón 14	GGAGGAAGCCTCAAAGCTCG	48	6680	6699	519
	588651	2097	2116	Exón 14	GTAGTTGGAGGAAGCCTCAA	40	6686	6705	520
15	588652	2103	2122	Exón 14	CAAGTGGTAGTTGGAGGAAG	43	6692	6711	521
	588654	2166	2185	Exón 15	TCCTCAGACACAAACAGAGC	13	6954	6973	522
	588656	2172	2191	Exón 15	TTCTCCTCCTCAGACACAAA	55	6960	6979	523
	588658	2196	2215	Exón 15	TAGACCTCCTTCCGAGTCAG	44	6984	7003	524
20	588660	2202	2221	Exón 15	TTGATGTAGACCTCCTTCCG	50	6990	7009	525
	588582	2219	2238	Unión Exón 15-16	CTTTCTTATCCCCATTCTTG	19	n/a	n/a	526
25	588583	2221	2240	Unión Exón 15-16	GCCTTTCTTATCCCCATTCT	14	n/a	n/a	527
	532775	2223	2242	Unión Exón 15-16	CTGCCTTTCTTATCCCCATT	3	n/a	n/a	203
30	588584	2225	2244	Unión Exón 15-16	AGCTGCCTTTCTTATCCCCA	18	n/a	n/a	528
	588662	2226	2245	Unión Exón 15-16	CAGCTGCCTTTCTTATCCCC	27	n/a	n/a	529
35	588585	2227	2246	Unión Exón 15-16	ACAGCTGCCTTTCTTATCCC	59	n/a	n/a	530
40	588664	2238	2257	Exón 16	GCATCTCTCTCACAGCTGCC	49	7122	7141	531
	588666	2276	2295	Exón 16	AGATGTCCTTGACTTTGTCA	41	7160	7179	532
	588668	2330	2349	Exón 16	CAGCATAGGGACTCACTCCT	41	7214	7233	533
45	588670	2361	2380	Unión Exón 16-17	CCGCCAGAATCACCTCTGCA	43	n/a	n/a	534
	588672	2397	2416	Exón 17	TGAATGAAACGACTTCTCTT	52	7362	7381	535
	588674	2430	2449	Exón 18	ACATCCACTACTCCCCAGCT	39	7665	7684	536
50	588676	2448	2467	Exón 18	CGCTTCTGGTTTTTGACAGC	69	7683	7702	537
	588678	2454	2473	Exón 18	TTTTGCCGCTTCTGGTTTTT	46	7689	7708	538
	588680	2466	2485	Exón 18	GCAGGTACCTGCTTTTGCCG	47	7701	7720	539
	588682	2532	2551	Exón 18	TCTTGGAGTTTCTCCTTCAG	58	7767	7786	540
55	532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTC AATCCC	10	7834	7853	239
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC A	11	7839	7858	317

Ejemplo 118: Inhibición antisentido del factor de complemento B humano (CFB) en células HepG2 por intercomunicadores de MOE

Se diseñaron oligonucleótidos antisentido dirigidos al ácido nucleico del Factor B del Complemento humano (CFB) y se probaron sus efectos en el ARNm de CFB in vitro. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con un oligonucleótido antisentido 3.000 nM. Después de un

período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se uso el conjunto de sondas de cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos de nuevo diseño en las Tablas siguientes se diseñaron como gapmers de 4-8-5 MOE, 5-9-5 MOE, 5-10-5 MOE, 3-10-4 MOE, 3-10-7 MOE, 6-7-6 MOE, 6-8-6 MOE o 5-7-5 MOE, o como desoxi, MOE y (S)-cEt oligonucleótidos.

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

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

"Sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que está dirigido el gapmer en la secuencia de genes humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más 3' al que está dirigido el gapmer en la secuencia de genes humana. Cada gapmer enumerado en las Tablas siguientes está dirigido al ARNm de CFB humano, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de Acceso de GENBANK NM_001710.5) o a la secuencia genómica del CFB humano, designada en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de Acceso de GENBANK NT_007592015 truncado a partir de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o ambos. 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no está dirigido a esa secuencia de genes particular con un 100% de complementariedad.

Tabla 132

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y cEt dirigidos SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAA TCCC	10	7834	7853	eeeeedddddddde eeee	239
588884	48	63	Exón 1	GGAACATCCAAGCGG G	79	1769	1784	eekdddddddkke	541
588872	154	169	Exón 1	TGGTCACATTCCCTT C	91	1875	1890	eekdddddddkke	542
588873	156	171	Exón 1	CCTGGTCACATTCCC T	91	1877	1892	eekdddddddkke	543
588874	158	173	Exón 1	GACCTGGTCACATTC C	91	1879	1894	eekdddddddkke	544
588878	1171	1186	Unión Exón 6-7	TAACCTGCCACCTTCT	92	n/a	n/a	eekdddddddkke	545

ES 2 745 825 T3

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y cEtdirigidos SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
588879	1173	1188	Unión Exón 6-7	CATAACTTGCCACCTT	94	n/a	n/a	eekddddddddddkke	546
588880	1175	1190	Unión Exón 6-7	ACCATAACTTGCCAC C	89	4151	4166	eekddddddddddkke	547
588869	2193	2208	Exón 15	CCTTCCGAGTCAGCT T	17	6981	6996	eekddddddddddkke	548
588870	2195	2210	Exón 15	CTCCTTCCGAGTCAG C	78	6983	6998	eekddddddddddkke	549
588871	2197	2212	Exón 15	ACCTCCTTCCGAGTC A	80	6985	7000	eekddddddddddkke	550
588881	2223	2238	Unión Exón 15-16	CTTTCTTATCCCCATT	93	n/a	n/a	eekddddddddddkke	551
588882	2225	2240	Unión Exón 15-16	GCCTTTCTTATCCCCA	88	n/a	n/a	eekddddddddddkke	552
588883	2227	2242	Unión Exón 15-16	CTGCCTTTCTTATCCC	90	n/a	n/a	eekddddddddddkke	553
588875	2457	2472	Exón 18	TTTGCCGCTTCTGGT T	81	7692	7707	eekddddddddddkke	554
588876	2459	2474	Exón 18	CTTTTGCCGCTTCTG G	95	7694	7709	eekddddddddddkke	555
588877	2461	2476	Exón 18	TGCTTTTGCCGCTTCT	91	7696	7711	eekddddddddddkke	556
588807	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCAT	82	7786	7801	eekddddddddddkke	557
588808	2553	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCT C	69	7788	7803	eekddddddddddkke	558
588809	2555	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATC C	51	7790	7805	eekddddddddddkke	559
588810	2556	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAAT C	23	7791	7806	eekddddddddddkke	560
588811	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAA	13	7794	7809	eekddddddddddkke	561
588812	2560	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCC A	29	7795	7810	eekddddddddddkke	562
588813	2561	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACC C	53	7796	7811	eekddddddddddkke	563
588814	2562	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAAC C	86	7797	7812	eekddddddddddkke	564
588815	2563	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAA C	76	7798	7813	eekddddddddddkke	565
588816	2564	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAA	33	7799	7814	eekddddddddddkke	566
588817	2565	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	48	7800	7815	eekddddddddddkke	567
588818	2566	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGA A	44	7801	7816	eekddddddddddkke	568
588819	2567	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAG A	74	7802	7817	eekddddddddddkke	569
588820	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATA G	68	7803	7818	eekddddddddddkke	570
588821	2569	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTAT A	45	7804	7819	eekddddddddddkke	571

ES 2 745 825 T3

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y cEtdirigidos SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
588822	2570	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTA T	50	7805	7820	eekddddddddddkke	572
588823	2571	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTT A	54	7806	7821	eekddddddddddkke	573
588824	2572	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCT T	35	7807	7822	eekddddddddddkke	574
588825	2573	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCC T	11	7808	7823	eekddddddddddkke	575
588826	2574	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCC C	19	7809	7824	eekddddddddddkke	576
588827	2575	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACC C	42	7810	7825	eekddddddddddkke	577
588828	2576	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAAC C	0	7811	7826	eekddddddddddkke	578
588829	2577	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAA C	49	7812	7827	eekddddddddddkke	579
588830	2578	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAA A	11	7813	7828	eekddddddddddkke	580
588831	2579	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGA A	20	7814	7829	eekddddddddddkke	581
588832	2580	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGG A	19	7815	7830	eekddddddddddkke	582
588833	2581	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAG G	12	7816	7831	eekddddddddddkke	583
588834	2582	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCA G	10	7817	7832	eekddddddddddkke	584
588835	2583	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGC A	13	7818	7833	eekddddddddddkke	585
588836	2584	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAG C	13	7819	7834	eekddddddddddkke	586
588837	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCA G	39	7820	7835	eekddddddddddkke	587
588838	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCC A	54	7821	7836	eekddddddddddkke	588
588839	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCC C	51	7822	7837	eekddddddddddkke	589
588840	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGT C	65	7823	7838	eekddddddddddkke	590
588841	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGT T	59	7824	7839	eekddddddddddkke	591
588842	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCT G	70	7825	7840	eekddddddddddkke	592
588843	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCC T	0	7826	7841	eekddddddddddkke	593
588844	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCC C	48	7827	7842	eekddddddddddkke	594
588845	2593	2608	Exón 18	ATTCATCCCACGCC C	46	7828	7843	eekddddddddddkke	595
588846	2594	2609	Exón 18	AATTCATCCCACGC C	67	7829	7844	eekddddddddddkke	596
588847	2595	2610	Exón 18	TAATTCATCCCACG C	75	7830	7845	eekddddddddddkke	597

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y cEtdirigidos SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
588848	2596	2611	Exón 18	TTAATTC AATCCCACG	76	7831	7846	eekddddddddddkke	598
588849	2597	2612	Exón 18	TTTAATTC AATCCCAC	94	7832	7847	eekddddddddddkke	599
588850	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTC AATCCCA	91	7833	7848	eekddddddddddkke	600
588851	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTC AATCCC	91	7834	7849	eekddddddddddkke	601
588852	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTC AATCC	78	7835	7850	eekddddddddddkke	602
588853	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTC AATC	81	7836	7851	eekddddddddddkke	603
588854	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTC AAT	63	7837	7852	eekddddddddddkke	604
588855	2603	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTC AA	65	7838	7853	eekddddddddddkke	605
588856	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTC A	76	7839	7854	eekddddddddddkke	606
588857	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTC	89	7840	7855	eekddddddddddkke	607
588858	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATT	89	7841	7856	eekddddddddddkke	608
588859	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAAT	89	7842	7857	eekddddddddddkke	609
588860	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTA A	76	7843	7858	eekddddddddddkke	610
588861	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTT A	87	7844	7859	eekddddddddddkke	611
588862	2610	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTT	85	7845	7860	eekddddddddddkke	612
588863	2611	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTT T	87	7846	7861	eekddddddddddkke	613
588864	2612	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGT T	67	7847	7862	eekddddddddddkke	614
588865	2613	2628	Exón 18	TTGTTGTCGCAGCTG T	51	n/a	n/a	eekddddddddddkke	615
588866	2614	2629	Exón 18	TTTGTTGTCGCAGCT G	95	n/a	n/a	eekddddddddddkke	616
588867	2615	2630	Exón 18	TTTTGTTGTCGCAGCT	92	n/a	n/a	eekddddddddddkke	617
588868	2616	2631	Exón 18	TTTTTGTGTCGCAGC	66	n/a	n/a	eekddddddddddkke	618

Tabla 133

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2								
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO:
588685	n/a	n/a	Exón 1	GGATCCAGCTCACTCCCCTG	14	1596	1615	466
588686	n/a	n/a	Exón 1	AAATAAGGATCCAGCTCACT	2	1602	1621	467
588688	n/a	n/a	Exón 1	GACCAGAAATAAGGATCCAG	3	1608	1627	468
588690	n/a	n/a	Exón 1	CTTAGGGACCAGAAATAAGG	10	1614	1633	469
588692	n/a	n/a	Exón 1	CACCCACTTAGGGACCAGAA	23	1620	1639	470
588694	n/a	n/a	Exón 1	ACCACCCACTTAGGGACCAG	23	1622	1641	471
588696	n/a	n/a	Exón 1	AGGTCCAGGACTCTCCCCTT	15	1685	1704	472
588698	n/a	n/a	Exón 1	AAGGTCCAGGACTCTCCCCT	19	1686	1705	473
588700	n/a	n/a	Exón 1	AAACTGCAGAAGTCCCACCC	16	1716	1735	474
588586	30	49	Exón 1	GGAGGGCCCGCTGAGCTGC	11	1751	1770	475
588587	48	67	Exón 1	TCCCGGAACATCCAAGCGGG	14	1769	1788	476
588588	56	75	Exón 1	CATCACTTTCCCGGAACATC	18	1777	1796	477
588589	151	170	Exón 1	CTGGTCACATTCCCTTCCCC	59	1872	1891	478
588590	157	176	Exón 1	CTAGACCTGGTCACATTCCC	59	1878	1897	479
588591	339	358	Unión Exón 1-2	GGAGTGGTGGTCACACCTCC	45	n/a	n/a	480

ES 2 745 825 T3

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO:	
5	588592	384	403	Exón 2	ACCCCCTCCAGAGAGCAGGA	39	2192	2211	481
	588593	390	409	Exón 2	ATCTCTACCCCCTCCAGAGA	29	2198	2217	482
10	588594	467	486	Exón 2	GGTACGGGTAGAAGCCAGAA	47	2275	2294	483
	588595	671	690	Exón 3	GGAGAGTGTAACCGTCATAG	44	2879	2898	484
	588596	689	708	Exón 3	TGCGATTGGCAGAGCCCCGG	43	2897	2916	638
	588597	695	714	Exón 3	GGCAGGTGCGATTGGCAGAG	34	2903	2922	486
15	588598	707	726	Exón 3	GGCCATTCACTTGGCAGGTG	17	2915	2934	487
	588599	738	757	Exón 3	TTGTCACAGATCGCTGTCTG	37	2946	2965	488
	588600	924	943	Unión Exón 3-4	AAGGAGTCTTGGCAGGAAGG	18	n/a	n/a	489
20	588601	931	950	Unión Exón 3-4	GTACATGAAGGAGTCTTGGC	32	n/a	n/a	490
	588602	959	978	Exón 5	AAGCTTCGGCCACCTCTTGA	45	3542	3561	491
	588603	1089	1108	Exón 6	CCATCTAGCACCAGGTAGAT	52	3773	3792	492
25	588604	1108	1127	Exón 6	GGCCCCAATGCTGTCTGATC	39	3792	3811	493
	588606	1150	1169	Exón 6	AATTAAGTTGACTAGACACT	37	3834	3853	494
	588608	1162	1181	Unión Exón 6-7	TGCCACCTTCTCAATTAAGT	21	n/a	n/a	648
30	588578	1167	1186	Unión Exón 6-7	TAAGTTGCCACCTTCTCAAT	22	n/a	n/a	496
	588579	1169	1188	Unión Exón 6-7	CATAACTTGCCACCTTCTCA	21	n/a	n/a	497
35	532692	1171	1190	Unión Exón 6-7	ACCATAACTTGCCACCTTCT	56	n/a	n/a	90
	588580	1173	1192	Unión Exón 6-7	ACACCATAACTTGCCACCTT	50	n/a	n/a	498
	588581	1175	1194	Exón 7	TCACACCATAACTTGCCACC	50	4151	4170	499
40	588610	1319	1338	Exón 8	TAGTCCCTGACTTCAACTTG	47	4612	4631	500
	588612	1325	1344	Exón 8	TGGTGTAGTCCCTGACTTC	47	4618	4637	501
	588614	1396	1415	Exón 8	GCGGTTCCAGCCTTCAGGAG	51	4689	4708	502
	588616	1421	1440	Exón 8	TCATGAGGATGATGACATGG	18	4714	4733	503
	588618	1446	1465	Exón 9	CCGCCATGTTGTGCAATCC	40	5020	5039	504
45	588620	1458	1477	Exón 9	GTAATTGGGTCCCCGCCCAT	40	5032	5051	505
	588623	1482	1501	Exón 9	AAGTCCCGGATCTCATCAAT	45	5056	5075	506
	588624	1542	1561	Unión Exón 9-10	AACACATAGACATCCAGATA	43	n/a	n/a	507
50	588626	1585	1604	Exón 10	CAAAGCATTGATGTTCACTT	45	5234	5253	508
	588628	1621	1640	Exón 10	TTTGAACACATGTTGCTCAT	53	5270	5289	509
	588631	1646	1665	Exón 10	CTTCCAGGTTTTCCATATCC	56	5295	5314	510
55	588632	1647	1666	Exón 10	TCTTCCAGGTTTTCCATATC	35	5296	5315	511
	588634	1689	1708	Exón 11	AGACTCAGAGACTGGCTTTC	55	5830	5849	512
	588636	1749	1768	Exón 11	GCCTGCCATGGTTGCTTGTG	78	5890	5909	513
	588638	1763	1782	Exón 11	TGACTGAGATCTTGGCCTGC	95	5904	5923	514
	588640	1912	1931	Exón 13	TTCTATCTCCAGGTCCCGCT	44	6406	6425	515
60	588642	1982	2001	Exón 13	AGTCATAAAATTCAGGAATT	40	6476	6495	516
	588645	2073	2092	Exón 14	CGAGTTGTTCCCTCGGTGCA	57	6662	6681	517
	588646	2085	2104	Exón 14	AGCCTCAAAGCTCGAGTTGT	48	6674	6693	518
	588648	2091	2110	Exón 14	GGAGGAAGCCTCAAAGCTCG	40	6680	6699	519
65	588651	2097	2116	Exón 14	GTAGTTGGAGGAAGCCTCAA	43	6686	6705	520

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO:	
5	588652	2103	2122	Exón 14	CAAGTGGTAGTTGGAGGAAG	13	6692	6711	521
	588654	2166	2185	Exón 15	TCCTCAGACACAAACAGAGC	55	6954	6973	522
10	588656	2172	2191	Exón 15	TTCTCCTCCTCAGACACAAA	44	6960	6979	523
	588658	2196	2215	Exón 15	TAGACCTCCTTCCGAGTCAG	50	6984	7003	524
	588660	2202	2221	Exón 15	TTGATGTAGACCTCCTTCCG	27	6990	7009	525
15	588582	2219	2238	Unión Exón 15-16	CTTTCTTATCCCCATTCTTG	49	n/a	n/a	526
	588583	2221	2240	Unión Exón 15-16	GCCTTTCTTATCCCCATTCT	41	n/a	n/a	527
20	532775	2223	2242	Unión Exón 15-16	CTGCCTTTCTTATCCCCATT	41	n/a	n/a	203
25	588584	2225	2244	Unión Exón 15-16	AGCTGCCTTTCTTATCCCCA	43	n/a	n/a	528
	588662	2226	2245	Unión Exón 15-16	CAGCTGCCTTTCTTATCCCC	52	n/a	n/a	529
30	588585	2227	2246	Unión Exón 15-16	ACAGCTGCCTTTCTTATCCC	39	n/a	n/a	530
	588664	2238	2257	Exón 16	GCATCTCTCTCACAGCTGCC	69	7122	7141	531
35	588666	2276	2295	Exón 16	AGATGTCCTTGACTTTGTCA	46	7160	7179	532
	588668	2330	2349	Exón 16	CAGCATAGGACTCACTCCT	47	7214	7233	533
	588670	2361	2380	Unión Exón 16-17	CCGCCAGAATCACCTCTGCA	58	n/a	n/a	534
40	588672	2397	2416	Exón 17	TGAATGAAACGACTTCTCTT	48	7362	7381	535
	588674	2430	2449	Exón 18	ACATCCACTACTCCCCAGCT	29	7665	7684	536
	588676	2448	2467	Exón 18	CGCTTCTGGTTTTTGCAGAC	58	7683	7702	537
	588678	2454	2473	Exón 18	TTTTGCCGTTCTGGTTTTT	45	7689	7708	538
45	588680	2466	2485	Exón 18	GCAGGTACCTGCTTTTGCCG	36	7701	7720	539
	588682	2532	2551	Exón 18	TCTTGAGTTTCTCCTTCAG	47	7767	7786	540
	532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	96	7834	7853	239
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	96	7839	7858	317

Tabla 134

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
55	598973	2552	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTCA	40	7787	7803	3-10-4	619
	599036	2552	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTCA	18	7787	7803	5-7-5	619
60	598974	2553	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTC	28	7788	7804	3-10-4	620
	599037	2553	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTC	19	7788	7804	5-7-5	620
	598975	2554	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCT	15	7789	7805	3-10-4	621
	599038	2554	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCT	32	7789	7805	5-7-5	621
65	598976	2555	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCC	12	7790	7806	3-10-4	622

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
5	599039	2555	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCC	7	7790	7806	5-7-5	622
	598977	2557	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAAT	13	7792	7808	3-10-4	623
10	599040	2557	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAAT	13	7792	7808	5-7-5	623
	598978	2558	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7809	3-10-4	624
	599041	2558	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7809	5-7-5	624
	598979	2559	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAA	8	7794	7810	3-10-4	625
15	599042	2559	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAA	19	7794	7810	5-7-5	625
	598980	2560	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCA	42	7795	7811	3-10-4	626
	599043	2560	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCA	10	7795	7811	5-7-5	626
	598981	2561	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCC	20	7796	7812	3-10-4	627
20	599044	2561	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCC	12	7796	7812	5-7-5	627
	598982	2562	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACC	10	7797	7813	3-10-4	628
	599045	2562	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACC	3	7797	7813	5-7-5	628
	598983	2563	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAAC	0	7798	7814	3-10-4	629
25	599046	2563	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAAC	18	7798	7814	5-7-5	629
	598984	2564	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAA	0	7799	7815	3-10-4	630
	599047	2564	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAA	7	7799	7815	5-7-5	630
	598985	2565	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAA	0	7800	7816	3-10-4	631
30	599048	2565	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAA	9	7800	7816	5-7-5	631
	598986	2566	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7817	3-10-4	632
	599049	2566	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAA	18	7801	7817	5-7-5	632
	598988	2567	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7818	3-10-4	633
35	599050	2567	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGA	8	7802	7818	5-7-5	633
	598989	2568	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAG	0	7803	7819	3-10-4	634
	598990	2569	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATA	8	7804	7820	3-10-4	635
	598991	2570	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTAT	25	7805	7821	3-10-4	636
	598992	2571	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTA	12	7806	7822	3-10-4	637
40	598993	2572	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTT	37	7807	7823	3-10-4	638
	598994	2573	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCT	29	7808	7824	3-10-4	639
	598995	2574	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCC C	42	7809	7825	3-10-4	640
45	598996	2575	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCC	36	7810	7826	3-10-4	641
	598997	2576	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACC	18	7811	7827	3-10-4	642
	598998	2577	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAAC	27	7812	7828	3-10-4	643
	598999	2578	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAA	61	7813	7829	3-10-4	644
50	599000	2580	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGG A	71	7815	7831	3-10-4	645
	599001	2581	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAG G	80	7816	7832	3-10-4	646
55	599002	2582	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCA G	68	7817	7833	3-10-4	647
	599003	2583	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGC A	71	7818	7834	3-10-4	648
	599004	2584	2600	Exón 18	CCAGCCCCTGTCCAG C	76	7819	7835	3-10-4	649
60	599005	2585	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCA G	70	7820	7836	3-10-4	650
	599006	2586	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCA	65	7821	7837	3-10-4	651
65	599007	2587	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCC	60	7822	7838	3-10-4	652

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599008	2588	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTC	72	7823	7839	3-10-4	653
	599009	2589	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGT	79	7824	7840	3-10-4	654
10	599010	2590	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTG	73	7825	7841	3-10-4	655
	599011	2591	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCT	79	7826	7842	3-10-4	656
	599012	2592	2608	Exón 18	ATCAATCCCACGCCCC	67	7827	7843	3-10-4	657
	599013	2593	2609	Exón 18	AATCAATCCCACGCC	65	7828	7844	3-10-4	658
15	599014	2594	2610	Exón 18	TAATCAATCCCACGCC	74	7829	7845	3-10-4	659
	599015	2595	2611	Exón 18	TTAATCAATCCCACGC	71	7830	7846	3-10-4	660
	599016	2596	2612	Exón 18	TTTAATCAATCCCACG	48	7831	7847	3-10-4	661
	599017	2597	2613	Exón 18	TTTTAATCAATCCCAC	34	7832	7848	3-10-4	662
20	599018	2598	2614	Exón 18	GTTTTAATCAATCCCA	56	7833	7849	3-10-4	663
	599019	2599	2615	Exón 18	TGTTTTAATCAATCCC	60	7834	7850	3-10-4	664
	599020	2600	2616	Exón 18	CTGTTTTAATCAATCC	0	7835	7851	3-10-4	665
	599021	2601	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATCAATC	33	7836	7852	3-10-4	666
25	599022	2602	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATCAAT	17	7837	7853	3-10-4	667
	599023	2603	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATCAA	52	7838	7854	3-10-4	668
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAT TCA	86	7839	7858	5-10-5	317
	599024	2604	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTAATTCA	88	7839	7855	3-10-4	669
30	599025	2605	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAATTC	85	7840	7856	3-10-4	670
	599026	2606	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAATT	69	7841	7857	3-10-4	671
	599027	2607	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAT	77	7842	7858	3-10-4	672
	599028	2608	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTAA	73	7843	7859	3-10-4	673
35	599029	2609	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTA	78	7844	7860	3-10-4	674
	599030	2610	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTT	75	7845	7861	3-10-4	675
	599031	2611	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTT	77	7846	7862	3-10-4	676
40	599032	2612	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTT	79	n/a	n/a	3-10-4	677
	599033	2613	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTGTCGCAGCTGT	80	n/a	n/a	3-10-4	678
	599034	2614	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTG	78	n/a	n/a	3-10-4	679
45	599035	2615	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCT	63	n/a	n/a	3-10-4	680

Tabla 135

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
50	599098	2552	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTCA	57	7787	7803	4-8-5	619
	599099	2553	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTC	33	7788	7804	4-8-5	620
	599100	2554	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCT	32	7789	7805	4-8-5	621
	599101	2555	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCC	47	7790	7806	4-8-5	622
60	599102	2557	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAAT	59	7792	7808	4-8-5	623
	599103	2558	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAA	10	7793	7809	4-8-5	624
	599104	2559	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAA	3	7794	7810	4-8-5	625
	599105	2560	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCA	45	7795	7811	4-8-5	626
65	599106	2561	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCC	49	7796	7812	4-8-5	627

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
5	599107	2562	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACC	35	7797	7813	4-8-5	628
	599108	2563	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAAC	17	7798	7814	4-8-5	629
10	599109	2564	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	36	7799	7815	4-8-5	630
	599110	2565	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAA	20	7800	7816	4-8-5	631
	599111	2566	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAA	20	7801	7817	4-8-5	632
	599112	2567	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGA	15	7802	7818	4-8-5	633
15	599113	2568	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAG	19	7803	7819	4-8-5	634
	599051	2568	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAG	26	7803	7819	5-7-5	634
	599114	2569	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATA	18	7804	7820	4-8-5	635
	599052	2569	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATA	21	7804	7820	5-7-5	635
20	599115	2570	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTAT	31	7805	7821	4-8-5	636
	599053	2570	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTAT	25	7805	7821	5-7-5	636
	599116	2571	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTA	39	7806	7822	4-8-5	637
	599054	2571	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTA	36	7806	7822	5-7-5	637
25	599117	2572	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTT	46	7807	7823	4-8-5	638
	599055	2572	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTT	22	7807	7823	5-7-5	638
	599118	2573	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCT	40	7808	7824	4-8-5	639
	599056	2573	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCT	32	7808	7824	5-7-5	639
30	599119	2574	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCC	50	7809	7825	4-8-5	640
	599057	2574	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCC	46	7809	7825	5-7-5	640
	599120	2575	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCC	30	7810	7826	4-8-5	641
	599058	2575	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCC	52	7810	7826	5-7-5	641
35	599121	2576	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACC	31	7811	7827	4-8-5	642
	599059	2576	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACC	24	7811	7827	5-7-5	642
	599122	2577	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAAC	23	7812	7828	4-8-5	643
	599060	2577	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAAC	37	7812	7828	5-7-5	643
40	599123	2578	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAA	51	7813	7829	4-8-5	644
	599061	2578	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAA	34	7813	7829	5-7-5	644
	599124	2580	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGA	56	7815	7831	4-8-5	645
	599062	2580	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGA	51	7815	7831	5-7-5	645
45	599125	2581	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGG	70	7816	7832	4-8-5	646
	599063	2581	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGG	56	7816	7832	5-7-5	646
	599126	2582	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAG	76	7817	7833	4-8-5	647
	599064	2582	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAG	61	7817	7833	5-7-5	647
50	599127	2583	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCA	67	7818	7834	4-8-5	648
	599065	2583	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCA	64	7818	7834	5-7-5	648
	599066	2584	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGC	40	7819	7835	5-7-5	649
	599067	2585	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAG	37	7820	7836	5-7-5	650
	599068	2586	2602	Exón 18	TCCACGCCCTGTCCA	31	7821	7837	5-7-5	651
55	599069	2587	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCC	39	7822	7838	5-7-5	652
	599070	2588	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCC	59	7823	7839	5-7-5	653
	599071	2589	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGT	63	7824	7840	5-7-5	657
	599072	2590	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGT	74	7825	7841	5-7-5	655
60	599073	2591	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCT	53	7826	7842	5-7-5	656
	599074	2592	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCC	56	7827	7843	5-7-5	657
	599075	2593	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCC	49	7828	7844	5-7-5	658
	599076	2594	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCC	54	7829	7845	5-7-5	659
65	599077	2595	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGC	79	7830	7846	5-7-5	660

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599078	2596	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACG	67	7831	7847	5-7-5	661
	599079	2597	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCAC	69	7832	7848	5-7-5	662
10	599080	2598	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCA	79	7833	7849	5-7-5	663
	599081	2599	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCC	57	7834	7850	5-7-5	664
	599082	2600	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCC	50	7835	7851	5-7-5	665
	599083	2601	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATC	67	7836	7852	5-7-5	666
15	599084	2602	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAAT	60	7837	7853	5-7-5	667
	599085	2603	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAA	71	7838	7854	5-7-5	668
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	82	7839	7858	5-10-5	317
	599086	2604	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCA	81	7839	7855	5-7-5	669
20	599087	2605	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTC	88	7840	7856	5-7-5	670
	599088	2606	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATT	84	7841	7857	5-7-5	671
	599089	2607	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT	81	7842	7858	5-7-5	672
	599090	2608	2624	Exón 18	TGTGCGCAGCTGTTTTAA	77	7843	7859	5-7-5	673
25	599091	2609	2625	Exón 18	TTGTGCGCAGCTGTTTTA	74	7844	7860	5-7-5	674
	599092	2610	2626	Exón 18	GTTGTGCGCAGCTGTTTT	66	7845	7861	5-7-5	675
	599093	2611	2627	Exón 18	TGTTGTGCGCAGCTGTTT	89	7846	7862	5-7-5	676
	599094	2612	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTGCGCAGCTGTT	82	n/a	n/a	5-7-5	677
30	599095	2613	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTTGTGCGCAGCTGT	87	n/a	n/a	5-7-5	678
	599096	2614	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTGCGCAGCTG	85	n/a	n/a	5-7-5	679
35	599097	2615	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTTGTGCGCAGCT	78	n/a	n/a	5-7-5	680

Tabla 136

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
40	599510	2552	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTCA	45	7787	7805	5-9-5	681
	599331	2553	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTC	46	7788	7806	5-9-5	682
	599332	2554	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCT	38	7789	7807	5-9-5	683
	599333	2556	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATC	1	7791	7809	5-9-5	684
50	599334	2557	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAAT	5	7792	7810	5-9-5	685
	599335	2558	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAA	34	7793	7811	5-9-5	686
	599336	2559	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA	40	7794	7812	5-9-5	687
	599337	2560	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCA	39	7795	7813	5-9-5	688
55	599338	2561	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCC	57	7796	7814	5-9-5	689
	599339	2562	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACC	26	7797	7815	5-9-5	690
	599281	2562	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACC	15	7797	7815	6-7-6	690
	599340	2563	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAAC	17	7798	7816	5-9-5	691
	599282	2563	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAAC	12	7798	7816	6-7-6	691
60	599341	2564	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAA	23	7799	7817	5-9-5	692
	599283	2564	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAA	18	7799	7817	6-7-6	692
	599342	2565	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAA	10	7800	7818	5-9-5	693
65	599284	2565	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAA	14	7800	7818	6-7-6	693

ES 2 745 825 T3

(continuación)

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

	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
5	599343	2566	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAA	10	7801	7819	5-9-5	694
	599285	2566	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAA	13	7801	7819	6-7-6	694
10	599344	2567	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGA	22	7802	7820	5-9-5	695
	599286	2567	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGA	31	7802	7820	6-7-6	695
	599345	2568	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAG	19	7803	7821	5-9-5	696
	599287	2568	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAG	12	7803	7821	6-7-6	696
15	599346	2569	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATA	30	7804	7822	5-9-5	697
	599288	2569	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATA	28	7804	7822	6-7-6	697
	599347	2570	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTAT	46	7805	7823	5-9-5	698
	599289	2570	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTAT	32	7805	7823	6-7-6	698
20	599348	2571	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTA	44	7806	7824	5-9-5	699
	599290	2571	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTA	24	7806	7824	6-7-6	699
	599349	2572	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTT	60	7807	7825	5-9-5	700
	599291	2572	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTT	38	7807	7825	6-7-6	700
25	599350	2573	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCT	49	7808	7826	5-9-5	701
	599292	2573	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCT	35	7808	7826	6-7-6	701
	599351	2575	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC	46	7810	7828	5-9-5	702
	599293	2575	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC	12	7810	7828	6-7-6	702
30	599352	2576	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACC	49	7811	7829	5-9-5	703
	599294	2576	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACC	38	7811	7829	6-7-6	703
	599353	2577	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAAC	64	7812	7830	5-9-5	704
	599295	2577	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAAC	33	7812	7830	6-7-6	704
35	599354	2578	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAA	56	7813	7831	5-9-5	705
	599296	2578	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAA	13	7813	7831	6-7-6	705
	599355	2580	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGA	81	7815	7833	5-9-5	706
	599297	2580	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGA	57	7815	7833	6-7-6	706
40	599356	2581	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGG	64	7816	7834	5-9-5	707
	599298	2581	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGG	39	7816	7834	6-7-6	707
	599299	2582	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAG	55	7817	7835	6-7-6	708
	599300	2583	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCA	45	7818	7836	6-7-6	709
45	599301	2584	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGC	39	7819	7837	6-7-6	710
	599302	2585	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAG	27	7820	7838	6-7-6	711
	599303	2586	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCA	35	7821	7839	6-7-6	712
	599304	2587	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCC	16	7822	7840	6-7-6	713
50	599305	2588	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	41	7823	7841	6-7-6	714
	599306	2589	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTGT	70	7824	7842	6-7-6	715
	599307	2590	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTG	66	7825	7843	6-7-6	716
	599308	2591	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCT	68	7826	7844	6-7-6	717
	599309	2592	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCC	52	7827	7845	6-7-6	718
55	599310	2593	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCC	39	7828	7846	6-7-6	719
	599311	2594	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	83	7829	7847	6-7-6	720
	599312	2595	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGC	72	7830	7848	6-7-6	721
	599313	2596	2614	Exón 18	GTTTAAATTCAATCCCACG	86	7831	7849	6-7-6	722
60	599314	2597	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCAC	91	7832	7850	6-7-6	723
	599315	2598	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCA	71	7833	7851	6-7-6	724
	599316	2599	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCC	89	7834	7852	6-7-6	725
	599317	2600	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCC	87	7835	7853	6-7-6	726
65	599318	2601	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATC	81	7836	7854	6-7-6	727

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599319	2602	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAAT	75	7837	7855	6-7-6	728
	599320	2603	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAA	84	7838	7856	6-7-6	729
10	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	92	7839	7858	5-10-5	317
	599321	2604	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCA	90	7839	7857	6-7-6	730
	599322	2605	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC	89	7840	7858	6-7-6	731
	599323	2606	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATT	81	7841	7859	6-7-6	732
15	599324	2607	2625	Exón 18	TTGTGCGAGCTGTTTTAAT	68	7842	7860	6-7-6	733
	599325	2608	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTAA	71	7843	7861	6-7-6	734
	599326	2609	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTTA	52	7844	7862	6-7-6	735
20	599327	2610	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTTT	88	n/a	n/a	6-7-6	736
	599328	2611	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTTT	87	n/a	n/a	6-7-6	737
	599329	2612	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGTT	84	n/a	n/a	6-7-6	738
25	599330	2613	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTGT	87	n/a	n/a	6-7-6	739

Tabla 137

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
30	599512	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	74	7787	7806	3-10-7	410
	599449	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	43	7788	7807	3-10-7	411
	599450	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	51	7789	7808	3-10-7	412
	599451	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	35	7790	7809	3-10-7	413
40	599452	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	34	7791	7810	3-10-7	414
	599453	2557	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	44	7792	7811	3-10-7	415
	599454	2558	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAA	54	7793	7812	3-10-7	416
	599455	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	53	7794	7813	3-10-7	417
45	599456	2560	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCCA	69	7795	7814	3-10-7	418
	599457	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	46	7796	7815	3-10-7	419
	599458	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	0	7797	7816	3-10-7	420
	599459	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	12	7798	7817	3-10-7	421
50	599460	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAA	17	7799	7818	3-10-7	422
	599461	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	24	7800	7819	3-10-7	423
	599462	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	33	7801	7820	3-10-7	424
	599463	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	38	7802	7821	3-10-7	425
	599464	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	33	7803	7822	3-10-7	426
55	599465	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	49	7804	7823	3-10-7	427
	599466	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	45	7805	7824	3-10-7	428
	599467	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	60	7806	7825	3-10-7	237
	599468	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	61	7807	7826	3-10-7	429
60	599469	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	52	7808	7827	3-10-7	430
	599470	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCCC	45	7809	7828	3-10-7	431
	599471	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	67	7810	7829	3-10-7	432
	599472	2576	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACC	79	7811	7830	3-10-7	433
65	599473	2577	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	72	7812	7831	3-10-7	238

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
5	599474	2578	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAAA	87	7813	7832	3-10-7	434
	599475	2579	2598	Exón 18	ACGCCCCTGTCCAGCAGGAA	76	7814	7833	3-10-7	435
10	599476	2580	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGGA	81	7815	7834	3-10-7	436
	599477	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAGG	83	7816	7835	3-10-7	437
	599478	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCAG	72	7817	7836	3-10-7	438
	599479	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGCA	81	7818	7837	3-10-7	439
15	599480	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAGC	77	7819	7838	3-10-7	440
	599481	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCAG	83	7820	7839	3-10-7	441
	599482	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCCA	87	7821	7840	3-10-7	442
	599483	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	90	7822	7841	3-10-7	443
20	599484	2588	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTGTC	72	7823	7842	3-10-7	444
	599485	2589	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	82	7824	7843	3-10-7	445
	599486	2590	2609	Exón 18	AATCAATCCCACGCCCTG	84	7825	7844	3-10-7	446
	599487	2591	2610	Exón 18	TAATCAATCCCACGCCCT	84	7826	7845	3-10-7	447
25	599488	2592	2611	Exón 18	TTAATCAATCCCACGCCCC	87	7827	7846	3-10-7	448
	599489	2593	2612	Exón 18	TTTAATCAATCCCACGCC	87	7828	7847	3-10-7	449
	599490	2594	2613	Exón 18	TTTTAATCAATCCCACGCC	86	7829	7848	3-10-7	450
	599491	2595	2614	Exón 18	GTTTTAATCAATCCCACGC	87	7830	7849	3-10-7	451
30	599492	2596	2615	Exón 18	TGTTTTAATCAATCCCACG	88	7831	7850	3-10-7	452
	599493	2597	2616	Exón 18	CTGTTTTAATCAATCCCAC	75	7832	7851	3-10-7	453
	599433	2597	2616	Exón 18	CTGTTTTAATCAATCCCAC	89	7832	7851	6-8-6	453
	599494	2598	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATCAATCCCA	90	7833	7852	3-10-7	454
35	599434	2598	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATCAATCCCA	89	7833	7852	6-8-6	454
	599495	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATCAATCCC	88	7834	7853	3-10-7	239
	599435	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATCAATCCC	91	7834	7853	6-8-6	239
	599496	2600	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATCAATCC	89	7835	7854	3-10-7	455
40	599436	2600	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATCAATCC	89	7835	7854	6-8-6	455
	599497	2601	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATCAATC	89	7836	7855	3-10-7	456
	599437	2601	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATCAATC	91	7836	7855	6-8-6	456
	599498	2602	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATCAAT	88	7837	7856	3-10-7	457
45	599438	2602	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATCAAT	90	7837	7856	6-8-6	457
	599499	2603	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATCAA	81	7838	7857	3-10-7	458
	599439	2603	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATCAA	88	7838	7857	6-8-6	458
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATCA	90	7839	7858	5-10-5	317
50	599500	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATCA	88	7839	7858	3-10-7	317
	599440	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATCA	88	7839	7858	6-8-6	317
	599501	2605	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATTC	78	7840	7859	3-10-7	459
	599441	2605	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATTC	90	7840	7859	6-8-6	459
	599502	2606	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTAATT	87	7841	7860	3-10-7	460
55	599442	2606	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTAATT	76	7841	7860	6-8-6	460
	599503	2607	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTTAAT	83	7842	7861	3-10-7	461
	599443	2607	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTTAAT	77	7842	7861	6-8-6	461
	599504	2608	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTTAA	89	7843	7862	3-10-7	395
60	599444	2608	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTTAA	69	7843	7862	6-8-6	395
	599505	2609	2628	Exón 19 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTTTTA	83	n/a	n/a	3-10-7	462
65	599445	2609	2628	Exón 19 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTTTTA	85	n/a	n/a	6-8-6	462

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599506	2610	2629	Exón 19 / Repetición	TTTGTTGTGCGAGCTGTTTT	89	n/a	n/a	3-10-7	463
10	599446	2610	2629	Exón 19 / Repetición	TTTGTTGTGCGAGCTGTTTT	85	n/a	n/a	6-8-6	463
	599507	2611	2630	Exón 19 / Repetición	TTTTGTTGTGCGAGCTGTTT	82	n/a	n/a	3-10-7	464
15	599447	2611	2630	Exón 19 / Repetición	TTTTGTTGTGCGAGCTGTTT	83	n/a	n/a	6-8-6	464
	599508	2612	2631	Exón 19 / Repetición	TTTTTGTGTCGCGAGCTGTT	90	n/a	n/a	3-10-7	465
20	599448	2612	2631	Exón 19 / Repetición	TTTTTGTGTCGCGAGCTGTT	87	n/a	n/a	6-8-6	465

Ejemplo 119: Inhibición antisentido del Factor B del Complemento humano (CFB) en células HepG2 por gapmers de MOE

Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos al ácido nucleico del Factor B del Complemento humano (CFB) y se probaron sus efectos sobre el ARNm de CFB in vitro. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Se transfectoron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con un oligonucleótido antisentido 2.000 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de sondas de cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos de nuevo diseño en las Tablas siguientes se diseñaron como gapmers de 4-8-5 MOE, 5-8-5 MOE, 5-9-5 MOE, 5-10-5 MOE, 6-7-6- MOE, 3-10-5 MOE, o 6-8-6 MOE.

Los gapmers de 4-8-5 MOE tienen una longitud de 17 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cuatro y cinco nucleósidos, respectivamente. Los gapmers de 5-8-5 MOE tienen una longitud de 18 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gapmers 5-9-5 MOE tienen una longitud de 19 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central comprende nueve 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gapmers de 5-10-5 de MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central comprende diez 2'-dixinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gapmers de 3-10-5 MOE tienen una longitud de 18 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central comprende diez 2'-desoxinucleósidos 'y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden tres y cinco nucleósidos, respectivamente. Los gapmers de 6-7-6 MOE tienen una longitud de 19 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central comprende siete 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden seis nucleósidos cada uno. Los gapmers de 6-8-6 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden seis nucleósidos cada uno. Cada nucleósido en el segmento del ala 5' y cada nucleósido en el segmento del ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gapmer son enlaces fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina a lo largo de cada gapmer son 5-metilcitosinas.

"Sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que está dirigido el gapmer en la secuencia de genes humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más 3' al que está dirigido el gapmer en la secuencia de genes humana. Cada gapmer enumerado en las Tablas siguientes está dirigido al ARNm de CFB humano, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de Acceso de GENBANK NM_001710.5) o a la secuencia genómica del CFB humano, designada en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de acceso de GENBANK NT_007592.15 truncada a partir de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o ambos. 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige

ES 2 745 825 T3

a esa secuencia de genes en particular con un 100% de complementariedad.

Tabla 138

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
5	599160	2560	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCA	26	7795	7812	5-8-5	740
10	599161	2561	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCC	20	7796	7813	5-8-5	741
	599162	2562	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACC	12	7797	7814	5-8-5	742
	599163	2563	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAAC	11	7798	7815	5-8-5	743
	599164	2564	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAA	11	7799	7816	5-8-5	744
15	599165	2566	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7818	5-8-5	745
	599166	2567	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGA	12	7802	7819	5-8-5	746
	599167	2568	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAG	14	7803	7820	5-8-5	747
	599168	2569	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATA	16	7804	7821	5-8-5	748
20	599169	2570	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTAT	24	7805	7822	5-8-5	749
	599170	2571	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTA	37	7806	7823	5-8-5	750
	599171	2572	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTT	30	7807	7824	5-8-5	751
	599172	2573	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCT	43	7808	7825	5-8-5	752
25	599173	2574	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCC	47	7809	7826	5-8-5	753
	599174	2575	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCC	27	7810	7827	5-8-5	754
	599175	2576	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACC	30	7811	7828	5-8-5	755
	599176	2577	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAAC	34	7812	7829	5-8-5	756
30	599177	2578	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAA	41	7813	7830	5-8-5	757
	599178	2580	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGA	67	7815	7832	5-8-5	758
	599179	2581	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGG	61	7816	7833	5-8-5	759
	599180	2582	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAG	62	7817	7834	5-8-5	760
35	599181	2583	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCA	63	7818	7835	5-8-5	761
	599128	2584	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGC	55	7819	7835	4-8-5	649
	599182	2584	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGC	58	7819	7836	5-8-5	762
	599129	2585	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAG	41	7820	7836	4-8-5	650
	599183	2585	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAG	43	7820	7837	5-8-5	763
40	599130	2586	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCA	46	7821	7837	4-8-5	651
	599184	2586	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCA	32	7821	7838	5-8-5	764
	599131	2587	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCC	30	7822	7838	4-8-5	652
	599185	2587	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCC	35	7822	7839	5-8-5	765
45	599132	2588	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTC	52	7823	7839	4-8-5	653
	599186	2588	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTC	55	7823	7840	5-8-5	766
	599133	2589	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGT	66	7824	7840	4-8-5	654
	599187	2589	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGT	72	7824	7841	5-8-5	767
50	599134	2590	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTG	80	7825	7841	4-8-5	655
	599188	2590	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTG	92	7825	7842	5-8-5	768
	599135	2591	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCT	61	7826	7842	4-8-5	656
	599189	2591	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCT	52	7826	7843	5-8-5	769
55	599136	2592	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCC	68	7827	7843	4-8-5	657
	599190	2592	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCC	62	7827	7844	5-8-5	770
	599137	2593	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	51	7828	7844	4-8-5	658
	599191	2593	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCC	54	7828	7845	5-8-5	771
60	599138	2594	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCC	71	7829	7845	4-8-5	659
	599192	2594	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCC	66	7829	7846	5-8-5	772
	599139	2595	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGC	80	7830	7846	4-8-5	660
	599193	2595	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGC	74	7830	7847	5-8-5	773
	599140	2596	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACG	66	7831	7847	4-8-5	786
65	599194	2596	2613	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACG	66	7831	7848	5-8-5	774

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599141	2597	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCAC	63	7832	7848	4-8-5	662
10	599195	2597	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCAC	86	7832	7849	5-8-5	775
10	599142	2598	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCA	69	7833	7849	4-8-5	663
10	599196	2598	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCA	82	7833	7850	5-8-5	776
10	599143	2599	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCC	59	7834	7850	4-8-5	664
15	599197	2599	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCC	79	7834	7851	5-8-5	777
15	599144	2600	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCC	52	7835	7851	4-8-5	665
15	599198	2600	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCC	86	7835	7852	5-8-5	778
15	599145	2601	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATC	53	7836	7852	4-8-5	666
20	599199	2601	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATC	72	7836	7853	5-8-5	779
20	599146	2602	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAAT	42	7837	7853	4-8-5	667
20	599200	2602	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAAT	76	7837	7854	5-8-5	780
20	599147	2603	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAA	55	7838	7854	4-8-5	668
20	599201	2603	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAA	87	7838	7855	5-8-5	781
25	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	93	7839	7858	5-10-5	317
25	599148	2604	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCA	84	7839	7855	4-8-5	669
25	599202	2604	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCA	89	7839	7856	5-8-5	782
25	599149	2605	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTC	92	7840	7856	4-8-5	670
30	599203	2605	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTC	90	7840	7857	5-8-5	783
30	599150	2606	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATT	75	7841	7857	4-8-5	671
30	599151	2607	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT	80	7842	7858	4-8-5	672
30	599152	2608	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAA	76	7843	7859	4-8-5	673
35	599153	2609	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTA	56	7844	7860	4-8-5	674
35	599154	2610	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTT	85	7845	7861	4-8-5	675
35	599155	2611	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTT	89	7846	7862	4-8-5	676
40	599156	2612	2628	Exón 18/ Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTT	83	n/a	n/a	4-8-5	813
40	599157	2613	2629	Exón 18/ Repetición	TTTGTTCGCAGCTGTT	78	n/a	n/a	4-8-5	678
40	599158	2614	2630	Exón 18/ Repetición	TTTTGTTCGCAGCTG	83	n/a	n/a	4-8-5	679
45	599159	2615	2631	Exón 18/ Repetición	TTTTTGTTCGCAGCT	65	n/a	n/a	4-8-5	680
45	599204	2606	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT	83	7841	7858	5-8-5	784

Tabla 139

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
50	599509	2552	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTCA	45	7787	7805	6-7-6	681
55	599213	2553	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTC	89	7788	7805	3-10-5	785
55	599273	2553	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTC	85	7788	7806	6-7-6	682
60	599214	2554	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCT	79	7789	7806	3-10-5	786
60	599274	2554	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCT	75	7789	7807	6-7-6	683
60	599215	2555	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCC	81	7790	7807	3-10-5	787
60	599216	2556	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATC	87	7791	7808	3-10-5	788
65	599275	2556	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATC	84	7791	7809	6-7-6	684

continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599217	2557	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAAT	84	7792	7809	3-10-5	789
	599276	2557	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAAT	68	7792	7810	6-7-6	685
10	599218	2558	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAA	82	7793	7810	3-10-5	790
	599277	2558	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAA	82	7793	7811	6-7-6	686
	599219	2559	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAA	81	7794	7811	3-10-5	791
	599278	2559	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA	84	7794	7812	6-7-6	687
15	599220	2560	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCA	92	7795	7812	3-10-5	740
	599279	2560	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCA	92	7795	7813	6-7-6	688
	599221	2561	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCC	93	7796	7813	3-10-5	741
	599280	2561	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCC	90	7796	7814	6-7-6	689
20	599222	2562	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACC	95	7797	7814	3-10-5	742
	599223	2563	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAAC	93	7798	7815	3-10-5	743
	599224	2564	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAA	90	7799	7816	3-10-5	744
	599225	2566	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAA	93	7801	7818	3-10-5	745
25	599226	2567	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGA	95	7802	7819	3-10-5	746
	599227	2568	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAG	94	7803	7820	3-10-5	747
	599228	2569	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATA	96	7804	7821	3-10-5	748
	599229	2570	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTAT	92	7805	7822	3-10-5	749
30	599230	2571	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTA	88	7806	7823	3-10-5	750
	599231	2572	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTT	83	7807	7824	3-10-5	751
	599232	2573	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCT	89	7808	7825	3-10-5	752
	599233	2574	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCC	83	7809	7826	3-10-5	753
35	599234	2575	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCC	88	7810	7827	3-10-5	754
	599235	2576	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACC	91	7811	7828	3-10-5	755
	599236	2577	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAAC	90	7812	7829	3-10-5	756
	599237	2578	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAA	34	7813	7830	3-10-5	757
40	599238	2580	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGA	14	7815	7832	3-10-5	758
	599239	2581	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGG	10	7816	7833	3-10-5	759
	599240	2582	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAG	26	7817	7834	3-10-5	760
	599241	2583	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCA	11	7818	7835	3-10-5	761
	599242	2584	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGC	24	7819	7836	3-10-5	762
45	599243	2585	2602	Exón 18	TCCACGCCCTGTCCAG	23	7820	7837	3-10-5	763
	599244	2586	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCA	29	7821	7838	3-10-5	764
	599245	2587	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCC	11	7822	7839	3-10-5	765
	599246	2588	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTGC	0	7823	7840	3-10-5	766
50	599247	2589	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGT	21	7824	7841	3-10-5	767
	599248	2590	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTG	0	7825	7842	3-10-5	768
	599249	2591	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCT	9	7826	7843	3-10-5	769
	599250	2592	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCC	4	7827	7844	3-10-5	770
55	599251	2593	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCC	12	7828	7845	3-10-5	771
	599252	2594	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCC	2	7829	7846	3-10-5	772
	599253	2595	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGC	28	7830	7847	3-10-5	773
	599254	2596	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACG	27	7831	7848	3-10-5	774
60	599255	2597	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCAC	38	7832	7849	3-10-5	775
	599256	2598	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCA	36	7833	7850	3-10-5	776
	599257	2599	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCC	48	7834	7851	3-10-5	777
	599258	2600	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCC	19	7835	7852	3-10-5	778
65	599259	2601	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATC	36	7836	7853	3-10-5	779

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5										
10	599260	2602	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATCAAT	58	7837	7854	3-10-5	780
	599261	2603	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATCAA	35	7838	7855	3-10-5	781
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATC A	96	7839	7858	5-10-5	317
15	599262	2604	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATCA	52	7839	7856	3-10-5	782
	599263	2605	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATC	66	7840	7857	3-10-5	783
	599264	2606	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT	48	7841	7858	3-10-5	784
	599265	2607	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAAT	46	7842	7859	3-10-5	792
20	599205	2607	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAAT	83	7842	7859	5-8-5	792
	599266	2608	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAA	76	7843	7860	3-10-5	793
	599206	2608	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAA	90	7843	7860	5-8-5	793
	599267	2609	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTA	53	7844	7861	3-10-5	794
25	599207	2609	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTA	82	7844	7861	5-8-5	794
	599268	2610	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTT	58	7845	7862	3-10-5	795
	599208	2610	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTT	70	7845	7862	5-8-5	795
30	599269	2611	2628	Exón 18 / Exón 18/ Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	38	n/a	n/a	3-10-5	796
	599209	2611	2628	Exón 18 / Exón 18/ Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	50	n/a	n/a	5-8-5	796
35	599270	2612	2629	Exón 18 / Exón 18/ Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTT	46	n/a	n/a	3-10-5	797
40	599210	2612	2629	Exón 18 / Exón 18/ Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTT	76	n/a	n/a	5-8-5	797
	599271	2613	2630	Exón 18 / Exón 18/ Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGT	64	n/a	n/a	3-10-5	798
45	599211	2613	2630	Exón 18 / Exón 18/ Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGT	78	n/a	n/a	5-8-5	798
	599272	2614	2631	Exón 18 / Exón 18/ Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTG	89	n/a	n/a	3-10-5	799
50	599212	2614	2631	Exón 18 / Exón 18/ Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTG	84	n/a	n/a	5-8-5	799

Tabla 140

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
55										
60	599511	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	38	7787	7806	6-8-6	410
	599389	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	80	7788	7807	6-8-6	411
	599390	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	92	7789	7808	6-8-6	412
	599391	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	90	7790	7809	6-8-6	413
65	599392	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	87	7791	7810	6-8-6	414

ES 2 745 825 T3

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599393	2557	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	87	7792	7811	6-8-6	415
	599394	2558	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAA	74	7793	7812	6-8-6	416
10	599395	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	78	7794	7813	6-8-6	417
	599396	2560	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCCA	77	7795	7814	6-8-6	418
	599397	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	89	7796	7815	6-8-6	419
	599398	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	90	7797	7816	6-8-6	420
15	599399	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	91	7798	7817	6-8-6	421
	599400	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAA	88	7799	7818	6-8-6	422
	599401	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	85	7800	7819	6-8-6	423
	599402	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	77	7801	7820	6-8-6	424
20	599403	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	85	7802	7821	6-8-6	425
	599404	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	90	7803	7822	6-8-6	426
	599405	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	89	7804	7823	6-8-6	427
	599406	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	72	7805	7824	6-8-6	428
25	599407	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	87	7806	7825	6-8-6	237
	599408	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	87	7807	7826	6-8-6	429
	599409	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	83	7808	7827	6-8-6	430
	599410	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCCC	88	7809	7828	6-8-6	431
30	599411	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	45	7810	7829	6-8-6	432
	599412	2576	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACC	66	7811	7830	6-8-6	433
	599413	2577	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	92	7812	7831	6-8-6	238
	599414	2578	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAAA	92	7813	7832	6-8-6	434
35	599415	2579	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGAA	87	7814	7833	6-8-6	435
	599416	2580	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGGA	91	7815	7834	6-8-6	436
	599417	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAGG	84	7816	7835	6-8-6	437
	599357	2582	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAG	88	7817	7835	5-9-5	708
40	599418	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCAG	85	7817	7836	6-8-6	438
	599358	2583	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCA	86	7818	7836	5-9-5	709
	599419	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGCA	91	7818	7837	6-8-6	833
	599359	2584	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGC	85	7819	7837	5-9-5	834
	599420	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAGC	91	7819	7838	6-8-6	440
45	599360	2585	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAG	89	7820	7838	5-9-5	711
	599421	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCAG	87	7820	7839	6-8-6	441
	599361	2586	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCA	89	7821	7839	5-9-5	712
	599422	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCCA	90	7821	7840	6-8-6	442
50	599362	2587	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCC	94	7822	7840	5-9-5	713
	599423	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	85	7822	7841	6-8-6	841
	599363	2588	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	88	7823	7841	5-9-5	714
	599424	2588	2607	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	88	7823	7842	6-8-6	444
	599364	2589	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTGT	88	7824	7842	5-9-5	715
55	599425	2589	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	68	7824	7843	6-8-6	445
	599365	2590	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	48	7825	7843	5-9-5	716
	599426	2590	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCTGT	55	7825	7844	6-8-6	446
	599366	2591	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCT	28	7826	7844	5-9-5	717
60	599427	2591	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCT	13	7826	7845	6-8-6	849
	599367	2592	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCT	21	7827	7845	5-9-5	718
	599428	2592	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCCT	39	7827	7846	6-8-6	448
	599368	2593	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCCT	20	7828	7846	5-9-5	719

65

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
599429	2593	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	18	7828	7847	6-8-6	449
599369	2594	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	78	7829	7847	5-9-5	720
599430	2594	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGCC	24	7829	7848	6-8-6	450
599370	2595	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGC	25	7830	7848	5-9-5	721
599431	2595	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCACGC	30	7830	7849	6-8-6	451
599371	2596	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCACG	84	7831	7849	5-9-5	722
599432	2596	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCACG	29	7831	7850	6-8-6	452
599372	2597	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCAC	83	7832	7850	5-9-5	723
599373	2598	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCA	81	7833	7851	5-9-5	724
599374	2599	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCC	26	7834	7852	5-9-5	725
599375	2600	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCC	26	7835	7853	5-9-5	726
599376	2601	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATC	62	7836	7854	5-9-5	727
599377	2602	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAAT	21	7837	7855	5-9-5	728
599378	2603	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAA	90	7838	7856	5-9-5	729
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	95	7839	7858	5-10-5	867
599379	2604	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCA	88	7839	7857	5-9-5	730
599380	2605	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC	37	7840	7858	5-9-5	869
599381	2606	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATT	33	7841	7859	5-9-5	732
599382	2607	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAAT	81	7842	7860	5-9-5	733
599383	2608	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTAA	54	7843	7861	5-9-5	734
599384	2609	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTTA	85	7844	7862	5-9-5	873
599385	2610	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTTT	59	n/a	n/a	5-9-5	736
599386	2611	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTGTCGCAGCTGTTT	81	n/a	n/a	5-9-5	737
599387	2612	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGTT	80	n/a	n/a	5-9-5	738
599388	2613	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTGT	84	n/a	n/a	5-9-5	739

Ejemplo 120: Inhibición antisentido del Factor B del Complemento humano (CFB) en células HepG2 por gapmers de MOE

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

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos de nuevo diseño en las Tablas siguientes se diseñaron como oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt. Los oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt tienen una longitud de 16 nucleósidos en donde el nucleósido tiene una modificación de azúcar de MOE, una modificación de azúcar de (S)-cEt o una modificación de desoxi. La columna "Química" describe las modificaciones de azúcar de cada oligonucleótido. 'k' indica una modificación de azúcar (S)-cEt; 'd' indica desoxirribosa; y 'e' indica una modificación de MOE.

"Sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que está dirigido el gapmer en la secuencia de genes humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más 3' al que está dirigido el gapmer en la secuencia de genes humana. Cada gapmer enumerado en las Tablas siguientes se dirige al ARNm de CFB humano, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de Acceso de GENBANK NM_001710.5) o a la secuencia genómica del CFB humano, designada en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de Acceso GENBANK NT_007592015 truncado a partir

de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o ambos. 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia genética en particular con un 100% de complementariedad.

Tabla 141

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599513	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCAT	11	7786	7801	ekkeekkddddddkk	557
	599514	2553	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTC	13	7788	7803	ekkeekkddddddkk	801
10	599515	2555	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCC	54	7790	7805	ekkeekkddddddkk	559
	599516	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAA	16	7794	7809	ekkeekkddddddkk	561
15	599517	2560	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCA	29	7795	7810	ekkeekkddddddkk	562
	599518	2561	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCC	55	7796	7811	ekkeekkddddddkk	563
	599519	2562	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACC	31	7797	7812	ekkeekkddddddkk	564
20	599520	2563	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAAC	14	7798	7813	ekkeekkddddddkk	565
	599521	2564	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAA	9	7799	7814	ekkeekkddddddkk	566
	599522	2565	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	8	7800	7815	ekkeekkddddddkk	567
25	599523	2566	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAA	6	7801	7816	ekkeekkddddddkk	568
	599524	2567	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGA	14	7802	7817	ekkeekkddddddkk	569
	599525	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAG	6	7803	7818	ekkeekkddddddkk	570
	599526	2569	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATA	16	7804	7819	ekkeekkddddddkk	571
	599527	2570	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTAT	0	7805	7820	ekkeekkddddddkk	572
30	599528	2571	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTA	6	7806	7821	ekkeekkddddddkk	573
	599529	2572	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTT	6	7807	7822	ekkeekkddddddkk	574
	599530	2574	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCC	29	7809	7824	ekkeekkddddddkk	576
	599531	2575	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCC	64	7810	7825	ekkeekkddddddkk	577
35	599532	2576	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACC	43	7811	7826	ekkeekkddddddkk	578
	599533	2577	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	25	7812	7827	ekkeekkddddddkk	820
	599534	2578	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	12	7813	7828	ekkeekkddddddkk	580
	599535	2580	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	16	7815	7830	ekkeekkddddddkk	582
40	599536	2582	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAG	27	7817	7832	ekkeekkddddddkk	584
	599537	2583	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCA	35	7818	7833	ekkeekkddddddkk	585
	599538	2584	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGC	26	7819	7834	ekkeekkddddddkk	586
	599539	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAG	33	7820	7835	ekkeekkddddddkk	587
45	599540	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCA	27	7821	7836	ekkeekkddddddkk	588
	599541	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCC	52	7822	7837	ekkeekkddddddkk	589
	599542	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTC	16	7823	7838	ekkeekkddddddkk	590
	599543	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGT	19	7824	7839	ekkeekkddddddkk	591
	599544	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTG	33	7825	7840	ekkeekkddddddkk	831
50	599545	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCT	24	7826	7841	ekkeekkddddddkk	593
	599546	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCC	54	7827	7842	ekkeekkddddddkk	594
	599547	2593	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCC	87	7828	7843	ekkeekkddddddkk	595
	599548	2594	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	79	7829	7844	ekkeekkddddddkk	596
55	599549	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	62	7830	7845	ekkeekkddddddkk	597
	599550	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	52	7831	7846	ekkeekkddddddkk	598
	599551	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	27	7832	7847	ekkeekkddddddkk	599
	599577	2597	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCAC	90	7832	7848	eeekkddddddkkee	662
60	599552	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	92	7833	7848	ekkeekkddddddkk	600
	599578	2598	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCA	88	7833	7849	eeekkddddddkkee	663
	599553	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCC	91	7834	7849	ekkeekkddddddkk	601
	599579	2599	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCC	79	7834	7850	eeekkddddddkkee	664
65	599554	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCC	90	7835	7850	ekkeekkddddddkk	602

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
599580	2600	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCC	79	7835	7851	eeekkkkkkkkkkkkk	665
599555	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATC	79	7836	7851	ekkeekkkkkkkkkkk	846
599581	2601	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATC	90	7836	7852	eeekkkkkkkkkkkkk	666
599556	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAAT	47	7837	7852	ekkeekkkkkkkkkkk	604
599582	2602	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAAT	89	7837	7853	eeekkkkkkkkkkkkk	849
599557	2603	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAA	67	7838	7853	ekkeekkkkkkkkkkk	850
599583	2603	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAA	49	7838	7854	eeekkkkkkkkkkkkk	668
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	78	7839	7858	eeeekkkkkkkkkkkk	317
599558	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCA	80	7839	7854	ekkeekkkkkkkkkkk	606
599584	2604	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCA	66	7839	7855	eeekkkkkkkkkkkkk	669
599559	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTC	38	7840	7855	ekkeekkkkkkkkkkk	607
599585	2605	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTC	80	7840	7856	eeekkkkkkkkkkkkk	670
599560	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATT	16	7841	7856	ekkeekkkkkkkkkkk	608
599586	2606	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATT	78	7841	7857	eeekkkkkkkkkkkkk	671
599561	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAAT	58	7842	7857	ekkeekkkkkkkkkkk	609
599587	2607	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT	81	7842	7858	eeekkkkkkkkkkkkk	672
588860	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	92	7843	7858	eeekkkkkkkkkkkkk	610
599562	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	78	7843	7858	ekkeekkkkkkkkkkk	610
599588	2608	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAA	81	7843	7859	eeekkkkkkkkkkkkk	673
599563	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTA	86	7844	7859	ekkeekkkkkkkkkkk	611
599589	2609	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTA	75	7844	7860	eeekkkkkkkkkkkkk	674
599564	2610	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTT	75	7845	7860	ekkeekkkkkkkkkkk	612
599590	2610	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTT	88	7845	7861	eeekkkkkkkkkkkkk	675
599565	2611	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTT	65	7846	7861	ekkeekkkkkkkkkkk	613
599591	2611	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTT	94	7846	7862	eeekkkkkkkkkkkkk	676
599566	2612	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTT	72	7847	7862	ekkeekkkkkkkkkkk	614
599592	2612	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTTT	90	n/a	n/a	eeekkkkkkkkkkkkk	677
599567	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTT	82	n/a	n/a	ekkeekkkkkkkkkkk	615
599593	2613	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTCGCAGCTGTTT	95	n/a	n/a	eeekkkkkkkkkkkkk	678
599568	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTCGCAGCTGTT	92	n/a	n/a	ekkeekkkkkkkkkkk	616
599594	2614	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTTCGCAGCTGTT	86	n/a	n/a	eeekkkkkkkkkkkkk	679
599569	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTTCGCAGCTG	89	n/a	n/a	ekkeekkkkkkkkkkk	617
599595	2615	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTCGCAGCTGTT	76	n/a	n/a	eeekkkkkkkkkkkkk	680
599570	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTCGCAGCTG	95	n/a	n/a	ekkeekkkkkkkkkkk	618

Ejemplo 121: Inhibición antisentido del Factor B del Complemento humano (CFB) en células HepG2 por gapmers de MOE

Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos al ácido nucleico del Factor B del Complemento humano (CFB) y se probaron sus efectos sobre el ARNm de CFB in vitro. Los oligonucleótidos

antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan por separada en las tablas mostradas a continuación. Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 500 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de sondas de cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos de nuevo diseño en las Tablas siguientes se diseñaron como oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt, o como gapmers de 5-8-5 MOE, 5-9-5 MOE, 5-10-5 MOE, 6-7-6- MOE , 3-10-5 MOE, o 6-8-6 MOE.

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

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

"Sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que está dirigido el gapmer en la secuencia de genes humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más 3' al que está dirigido el gapmer en la secuencia de genes humana. Cada gapmer enumerado en las Tablas siguientes se dirige al ARNm de CFB humano, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de Acceso de GENBANK NM_001710.5) o a la secuencia genómica del CFB humano, designada en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de Acceso GENBANK NT_007592015 truncada a partir de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o ambos. 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia genética en particular con un 100% de complementariedad.

Tabla 142

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)- cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
601152	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCAT	22	7786	7801	eekkkdddddckkee	557
601218	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCAT	21	7786	7801	ekkkdddddckeee	557
601153	2552	2567	Exón 18	AAAACCCAAATCCTCA	27	7787	7802	eekkkdddddckkee	800
601219	2552	2567	Exón 18	AAAACCCAAATCCTCA	19	7787	7802	ekkkdddddckeee	800
601154	2553	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTC	23	7788	7803	eekkkdddddckkee	558
601220	2553	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTC	24	7788	7803	ekkkdddddckeee	558
601155	2554	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCT	20	7789	7804	eekkkdddddckkee	801
601221	2554	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCT	0	7789	7804	ekkkdddddckeee	801
601156	2555	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCC	11	7790	7805	eekkkdddddckkee	559
601222	2555	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCC	23	7790	7805	ekkkdddddckeee	559

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	601157	2556	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATC	9	7791	7806	eekkkkkkkkkkkkk	560
	601223	2556	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATC	0	7791	7806	eekkkkkkkkkkkkk	560
	601158	2557	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAAT	0	7792	7807	eekkkkkkkkkkkkk	802
10	601224	2557	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAAT	0	7792	7807	eekkkkkkkkkkkkk	802
	601159	2558	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAA	2	7793	7808	eekkkkkkkkkkkkk	803
	601225	2558	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7808	eekkkkkkkkkkkkk	803
	601160	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAA	0	7794	7809	eekkkkkkkkkkkkk	561
15	601226	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAA	0	7794	7809	eekkkkkkkkkkkkk	561
	601161	2560	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCA	1	7795	7810	eekkkkkkkkkkkkk	562
	601227	2560	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCA	14	7795	7810	eekkkkkkkkkkkkk	562
	601162	2561	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCC	9	7796	7811	eekkkkkkkkkkkkk	563
20	601228	2561	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCC	9	7796	7811	eekkkkkkkkkkkkk	563
	601163	2562	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACC	0	7797	7812	eekkkkkkkkkkkkk	564
	601164	2563	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAAC	3	7798	7813	eekkkkkkkkkkkkk	565
25	601165	2564	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAA	0	7799	7814	eekkkkkkkkkkkkk	566
	601166	2565	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	0	7800	7815	eekkkkkkkkkkkkk	567
	601167	2566	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7816	eekkkkkkkkkkkkk	568
30	601168	2567	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7817	eekkkkkkkkkkkkk	569
	601169	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAG	0	7803	7818	eekkkkkkkkkkkkk	570
	601170	2569	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATA	10	7804	7819	eekkkkkkkkkkkkk	571
35	601171	2570	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTAT	9	7805	7820	eekkkkkkkkkkkkk	572
	601172	2571	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTA	15	7806	7821	eekkkkkkkkkkkkk	573
	601173	2572	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTT	29	7807	7822	eekkkkkkkkkkkkk	574
	601174	2573	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCT	25	7808	7823	eekkkkkkkkkkkkk	575
40	601175	2574	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCC	15	7809	7824	eekkkkkkkkkkkkk	576
	601176	2575	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCC	18	7810	7825	eekkkkkkkkkkkkk	577
	601177	2576	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACC	10	7811	7826	eekkkkkkkkkkkkk	578
	601178	2577	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	11	7812	7827	eekkkkkkkkkkkkk	579
45	601179	2578	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	19	7813	7828	eekkkkkkkkkkkkk	580
	601180	2579	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAA	7	7814	7829	eekkkkkkkkkkkkk	581
	601181	2580	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	3	7815	7830	eekkkkkkkkkkkkk	582
	601182	2581	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGG	0	7816	7831	eekkkkkkkkkkkkk	583
50	601183	2582	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAG	4	7817	7832	eekkkkkkkkkkkkk	584
	601184	2583	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCA	14	7818	7833	eekkkkkkkkkkkkk	585
	601185	2584	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGC	26	7819	7834	eekkkkkkkkkkkkk	586
	601186	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAG	8	7820	7835	eekkkkkkkkkkkkk	587
	601187	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCA	18	7821	7836	eekkkkkkkkkkkkk	588
55	601188	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCC	20	7822	7837	eekkkkkkkkkkkkk	589
	601189	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTG	12	7823	7838	eekkkkkkkkkkkkk	590
	601190	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGT	33	7824	7839	eekkkkkkkkkkkkk	591
	601191	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTG	52	7825	7840	eekkkkkkkkkkkkk	592
60	601192	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCT	46	7826	7841	eekkkkkkkkkkkkk	593
	601193	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCC	30	7827	7842	eekkkkkkkkkkkkk	594
	601194	2593	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCC	41	7828	7843	eekkkkkkkkkkkkk	595
	601195	2594	2609	Exón 18	AATCAATCCCACGCC	40	7829	7844	eekkkkkkkkkkkkk	596

65

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
601196	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	71	7830	7845	eekkkkkkkkkkkkk	597
601197	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	42	7831	7846	eekkkkkkkkkkkkk	598
601198	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	63	7832	7847	eekkkkkkkkkkkkk	599
601199	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	51	7833	7848	eekkkkkkkkkkkkk	600
601200	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCC	65	7834	7849	eekkkkkkkkkkkkk	601
601201	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCC	49	7835	7850	eekkkkkkkkkkkkk	602
601202	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATC	33	7836	7851	eekkkkkkkkkkkkk	603
601203	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAAT	63	7837	7852	eekkkkkkkkkkkkk	604
601204	2603	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAA	69	7838	7853	eekkkkkkkkkkkkk	605
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT CA	73	7839	7858	eeeeedkkkkkkkkkk ee e	317
601205	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCA	51	7839	7854	eekkkkkkkkkkkkk	606
601206	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTC	43	7840	7855	eekkkkkkkkkkkkk	607
601207	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATT	52	7841	7856	eekkkkkkkkkkkkk	608
601208	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAAT	61	7842	7857	eekkkkkkkkkkkkk	609
588860	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	75	7843	7858	eekkkkkkkkkkkkk	610
601209	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	73	7843	7858	eekkkkkkkkkkkkk	610
601210	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTA	80	7844	7859	eekkkkkkkkkkkkk	611
601211	2610	2625	Exón 18	TTGTGCAGCTGTTTT	64	7845	7860	eekkkkkkkkkkkkk	612
601212	2611	2626	Exón 18	GTTGTGCAGCTGTTTT	86	7846	7861	eekkkkkkkkkkkkk	613
601213	2612	2627	Exón 18	TGTTGTGCAGCTGTT	87	7847	7862	eekkkkkkkkkkkkk	614
601214	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTGCAGCTGT	84	n/a	n/a	eekkkkkkkkkkkkk	615
601215	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTGCAGCTG	78	n/a	n/a	eekkkkkkkkkkkkk	616
601216	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTGCAGCT	73	n/a	n/a	eekkkkkkkkkkkkk	617
601217	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTGCAGC	66	n/a	n/a	eekkkkkkkkkkkkk	618

Tabla 143

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
601284	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCAT	8	7786	7801	ekkkkkkkkkkkkk	557
601285	2552	2567	Exón 18	AAAACCCAAATCCTCA	15	7787	7802	ekkkkkkkkkkkkk	800
601286	2553	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTC	21	7788	7803	ekkkkkkkkkkkkk	558
601287	2554	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCT	9	7789	7804	ekkkkkkkkkkkkk	801
601288	2555	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCC	0	7790	7805	ekkkkkkkkkkkkk	559
601289	2556	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATC	40	7791	7806	ekkkkkkkkkkkkk	560
601290	2557	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAAT	16	7792	7807	ekkkkkkkkkkkkk	802
601291	2558	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAA	15	7793	7808	ekkkkkkkkkkkkk	803

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
5										
10	601292	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAA	5	7794	7809	ekkkkkkkkkkkkkkk	561
	601293	2560	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCA	15	7795	7810	ekkkkkkkkkkkkkkk	562
	601294	2561	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCC	3	7796	7811	ekkkkkkkkkkkkkkk	563
	601229	2562	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACC	15	7797	7812	ekkkkkkkkkkkkkkk	564
15	601295	2562	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACC	5	7797	7812	ekkkkkkkkkkkkkkk	564
	601230	2563	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAAC	14	7798	7813	ekkkkkkkkkkkkkkk	565
	601296	2563	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAAC	0	7798	7813	ekkkkkkkkkkkkkkk	565
	601231	2564	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAA	14	7799	7814	ekkkkkkkkkkkkkkk	566
20	601297	2564	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAA	14	7799	7814	ekkkkkkkkkkkkkkk	566
	601232	2565	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	15	7800	7815	ekkkkkkkkkkkkkkk	567
	601298	2565	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	7	7800	7815	ekkkkkkkkkkkkkkk	567
	601233	2566	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7816	ekkkkkkkkkkkkkkk	568
25	601299	2566	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7816	ekkkkkkkkkkkkkkk	568
	601234	2567	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7817	ekkkkkkkkkkkkkkk	569
	601300	2567	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGA	9	7802	7817	ekkkkkkkkkkkkkkk	569
	601235	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAG	3	7803	7818	ekkkkkkkkkkkkkkk	570
30	601301	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAG	14	7803	7818	ekkkkkkkkkkkkkkk	570
	601236	2569	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATA	0	7804	7819	ekkkkkkkkkkkkkkk	571
	601302	2569	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATA	0	7804	7819	ekkkkkkkkkkkkkkk	571
	601237	2570	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTAT	16	7805	7820	ekkkkkkkkkkkkkkk	572
35	601303	2570	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTAT	16	7805	7820	ekkkkkkkkkkkkkkk	572
	601238	2571	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTA	11	7806	7821	ekkkkkkkkkkkkkkk	573
	601304	2571	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTA	10	7806	7821	ekkkkkkkkkkkkkkk	573
	601239	2572	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTT	21	7807	7822	ekkkkkkkkkkkkkkk	574
	601305	2572	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTT	7	7807	7822	ekkkkkkkkkkkkkkk	574
40	601240	2573	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCT	6	7808	7823	ekkkkkkkkkkkkkkk	575
	601241	2574	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCC	10	7809	7824	ekkkkkkkkkkkkkkk	576
	601242	2575	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCC	19	7810	7825	ekkkkkkkkkkkkkkk	577
	601243	2576	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACC	10	7811	7826	ekkkkkkkkkkkkkkk	578
45	601244	2577	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	28	7812	7827	ekkkkkkkkkkkkkkk	579
	601245	2578	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	5	7813	7828	ekkkkkkkkkkkkkkk	580
	601246	2579	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAA	18	7814	7829	ekkkkkkkkkkkkkkk	581
	601247	2580	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	4	7815	7830	ekkkkkkkkkkkkkkk	582
50	601248	2581	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGG	6	7816	7831	ekkkkkkkkkkkkkkk	583
	601249	2582	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAG	18	7817	7832	ekkkkkkkkkkkkkkk	584
	601250	2583	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCA	26	7818	7833	ekkkkkkkkkkkkkkk	585
	601251	2584	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGC	27	7819	7834	ekkkkkkkkkkkkkkk	586
55	601252	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAG	21	7820	7835	ekkkkkkkkkkkkkkk	587
	601253	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCA	0	7821	7836	ekkkkkkkkkkkkkkk	588
	601254	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCC	31	7822	7837	ekkkkkkkkkkkkkkk	589
	601255	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCC	3	7823	7838	ekkkkkkkkkkkkkkk	590
	601256	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGT	21	7824	7839	ekkkkkkkkkkkkkkk	591
60	601257	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGT	47	7825	7840	ekkkkkkkkkkkkkkk	592
	601258	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCT	48	7826	7841	ekkkkkkkkkkkkkkk	593
	601259	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCC	38	7827	7842	ekkkkkkkkkkkkkkk	594
	601260	2593	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCC	33	7828	7843	ekkkkkkkkkkkkkkk	595
65	601261	2594	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	17	7829	7844	ekkkkkkkkkkkkkkk	596

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5										
10										
15										
20										
25										
30										
35										
40										
45										
	601262	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	40	7830	7845	ekkkdddddddkeee	597
	601263	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	31	7831	7846	ekkkdddddddkeee	598
	601264	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	72	7832	7847	ekkkdddddddkeee	599
	601265	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	48	7833	7848	ekkkdddddddkeee	600
	601266	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCC	64	7834	7849	ekkkdddddddkeee	601
	601267	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCC	43	7835	7850	ekkkdddddddkeee	602
	601268	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATC	44	7836	7851	ekkkdddddddkeee	603
	601269	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAAT	66	7837	7852	ekkkdddddddkeee	604
	601270	2603	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAA	47	7838	7853	ekkkdddddddkeee	605
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT CA	3	7839	7858	eeeeeeeeeeeeeeee e	317
	601271	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCA	26	7839	7854	ekkkdddddddkeee	606
	601272	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTC	33	7840	7855	ekkkdddddddkeee	607
	601273	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATT	34	7841	7856	ekkkdddddddkeee	608
	601274	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAAT	39	7842	7857	ekkkdddddddkeee	609
	588860	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	72	7843	7858	eekkdddddddkke	610
	601275	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	65	7843	7858	ekkkdddddddkeee	610
	601276	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTA	65	7844	7859	ekkkdddddddkeee	611
	601277	2610	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTT	51	7845	7860	ekkkdddddddkeee	612
	601278	2611	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTT	78	7846	7861	ekkkdddddddkeee	613
	601279	2612	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTT	79	7847	7862	ekkkdddddddkeee	614
	601280	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGT	70	n/a	n/a	ekkkdddddddkeee	615
	601281	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTG	78	n/a	n/a	ekkkdddddddkeee	616
	601282	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCT	68	n/a	n/a	ekkkdddddddkeee	617
	601283	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGC	61	n/a	n/a	ekkkdddddddkeee	618

Tabla 144

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
50										
55										
60										
65										
	601306	2573	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCT	22	7808	7823	ekkkdddddddkeee	575
	601307	2574	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCC	22	7809	7824	ekkkdddddddkeee	576
	601308	2575	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCC	33	7810	7825	ekkkdddddddkeee	577
	601309	2576	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACC	33	7811	7826	ekkkdddddddkeee	578
	601310	2577	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	28	7812	7827	ekkkdddddddkeee	579
	601311	2578	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	33	7813	7828	ekkkdddddddkeee	580
	601312	2579	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAA	13	7814	7829	ekkkdddddddkeee	581
	601313	2580	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	32	7815	7830	ekkkdddddddkeee	582
	601314	2581	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGG	0	7816	7831	ekkkdddddddkeee	583
	601315	2582	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAG	36	7817	7832	ekkkdddddddkeee	584

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
5										
10	601316	2583	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCA	39	7818	7833	ekkkkkkkkkkkkkkk	585
	601317	2584	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGC	33	7819	7834	ekkkkkkkkkkkkkkk	586
	601356	2584	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGC	27	7819	7834	kkkkkkkkkkkkkkkk	586
	601318	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAG	35	7820	7835	ekkkkkkkkkkkkkkk	587
15	601357	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAG	26	7820	7835	kkkkkkkkkkkkkkkk	587
	601319	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCA	33	7821	7836	ekkkkkkkkkkkkkkk	588
	601358	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCA	26	7821	7836	kkkkkkkkkkkkkkkk	588
	601320	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCC	25	7822	7837	ekkkkkkkkkkkkkkk	589
20	601359	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCC	23	7822	7837	kkkkkkkkkkkkkkkk	589
	601321	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTC	50	7823	7838	ekkkkkkkkkkkkkkk	590
	601360	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTC	33	7823	7838	kkkkkkkkkkkkkkkk	590
	601322	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGT	52	7824	7839	ekkkkkkkkkkkkkkk	591
25	601361	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGT	48	7824	7839	kkkkkkkkkkkkkkkk	591
	601323	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTG	67	7825	7840	ekkkkkkkkkkkkkkk	592
	601362	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTG	51	7825	7840	kkkkkkkkkkkkkkkk	592
	601324	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCT	42	7826	7841	ekkkkkkkkkkkkkkk	593
30	601363	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCT	42	7826	7841	kkkkkkkkkkkkkkkk	593
	601325	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCC	52	7827	7842	ekkkkkkkkkkkkkkk	594
	601364	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCC	48	7827	7842	kkkkkkkkkkkkkkkk	594
	601326	2593	2608	Exón 18	ATCAATCCCACGCCCC	27	7828	7843	ekkkkkkkkkkkkkkk	595
35	601365	2593	2608	Exón 18	ATCAATCCCACGCCCC	36	7828	7843	kkkkkkkkkkkkkkkk	595
	601327	2594	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	66	7829	7844	ekkkkkkkkkkkkkkk	596
	601366	2594	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	49	7829	7844	kkkkkkkkkkkkkkkk	596
	601328	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	55	7830	7845	ekkkkkkkkkkkkkkk	597
40	601367	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	57	7830	7845	kkkkkkkkkkkkkkkk	597
	601329	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	69	7831	7846	ekkkkkkkkkkkkkkk	598
	601368	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	68	7831	7846	kkkkkkkkkkkkkkkk	598
	601330	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	58	7832	7847	ekkkkkkkkkkkkkkk	599
45	601369	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	65	7832	7847	kkkkkkkkkkkkkkkk	599
	601331	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	45	7833	7848	ekkkkkkkkkkkkkkk	600
	601370	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	42	7833	7848	kkkkkkkkkkkkkkkk	600
	601332	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCC	84	7834	7849	ekkkkkkkkkkkkkkk	601
50	601371	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCC	79	7834	7849	kkkkkkkkkkkkkkkk	601
	601333	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCC	61	7835	7850	ekkkkkkkkkkkkkkk	602
	601372	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCC	71	7835	7850	kkkkkkkkkkkkkkkk	602
	601334	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATC	61	7836	7851	ekkkkkkkkkkkkkkk	603
55	601373	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATC	57	7836	7851	kkkkkkkkkkkkkkkk	603
	601335	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAAT	73	7837	7852	ekkkkkkkkkkkkkkk	604
	601374	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAAT	66	7837	7852	kkkkkkkkkkkkkkkk	604
	601336	2603	2618	Exón 18	AGTGTTTTAATTCAA	64	7838	7853	ekkkkkkkkkkkkkkk	605
60	601375	2603	2618	Exón 18	AGTGTTTTAATTCAA	61	7838	7853	kkkkkkkkkkkkkkkk	605
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT CA	66	7839	7858	eeeeeeeeeeeeeeee eeee	317
	601337	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCA	53	7839	7854	ekkkkkkkkkkkkkkk	606
	601376	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCA	39	7839	7854	kkkkkkkkkkkkkkkk	606
	601338	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTC	67	7840	7855	ekkkkkkkkkkkkkkk	607
65	601377	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTC	67	7840	7855	kkkkkkkkkkkkkkkk	607

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5										
10	601339	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAAATT	63	7841	7856	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	608
	601378	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAAATT	60	7841	7856	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	608
	601340	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAAAT	40	7842	7857	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	609
	601379	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAAAT	36	7842	7857	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	609
15	588860	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	84	7843	7858	eekkkkkkkkkkkkkkk	610
	601341	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	74	7843	7858	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	610
	601380	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	78	7843	7858	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	610
	601342	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTA	68	7844	7859	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	611
20	601381	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTA	66	7844	7859	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	611
	601343	2610	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTT	71	7845	7860	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	612
	601382	2610	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTT	84	7845	7860	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	612
	601344	2611	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTT	87	7846	7861	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	613
25	601383	2611	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTT	85	7846	7861	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	613
	601345	2612	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTT	82	7847	7862	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	614
	601384	2612	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTT	79	7847	7862	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	614
	601346	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGT	73	n/a	n/a	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	615
30	601385	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGT	84	n/a	n/a	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	615
	601347	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTCGCAGCTG	70	n/a	n/a	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	616
35	601386	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTCGCAGCTG	71	n/a	n/a	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	616
	601348	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTTCGCAGCT	71	n/a	n/a	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	617
40	601387	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTTCGCAGCT	76	n/a	n/a	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	617
	601349	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTCGCAGC	71	n/a	n/a	ekkkkkkkkkkkkkkkkk	618
45	601388	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTCGCAGC	67	n/a	n/a	kkkkkkkkkkkkkkkkkk	618

Tabla 145

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
50										
	599357	2582	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAG	26	7817	7835	5-9-5	708
	599358	2583	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCA	22	7818	7836	5-9-5	709
55	599359	2584	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGC	13	7819	7837	5-9-5	710
	599360	2585	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAG	7	7820	7838	5-9-5	711
	599361	2586	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCA	11	7821	7839	5-9-5	712
	599362	2587	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCC	14	7822	7840	5-9-5	713
60	599363	2588	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTC	17	7823	7841	5-9-5	714
	599364	2589	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTGT	20	7824	7842	5-9-5	715
	599365	2590	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTG	22	7825	7843	5-9-5	716
	599366	2591	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCT	13	7826	7844	5-9-5	717
65	599367	2592	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCC	11	7827	7845	5-9-5	718

ES 2 745 825 T3

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
5	599368	2593	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCC	10	7828	7846	5-9-5	719
	599369	2594	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	19	7829	7847	5-9-5	720
10	599370	2595	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGC	23	7830	7848	5-9-5	721
	599371	2596	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCACG	4	7831	7849	5-9-5	722
	599372	2597	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCAC	16	7832	7850	5-9-5	723
	599373	2598	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCA	3	7833	7851	5-9-5	724
15	599374	2599	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCC	10	7834	7852	5-9-5	725
	599375	2600	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCC	17	7835	7853	5-9-5	726
	599376	2601	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATC	18	7836	7854	5-9-5	727
	599377	2602	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAAT	22	7837	7855	5-9-5	728
20	599378	2603	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAA	11	7838	7856	5-9-5	729
	599511	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	7	7787	7806	6-8-6	410
	599389	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	22	7788	7807	6-8-6	411
	599390	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	21	7789	7808	6-8-6	412
25	599391	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	27	7790	7809	6-8-6	413
	599392	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	30	7791	7810	6-8-6	414
	599393	2557	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	30	7792	7811	6-8-6	415
	599394	2558	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAA	28	7793	7812	6-8-6	416
30	599395	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	23	7794	7813	6-8-6	417
	599396	2560	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCCA	53	7795	7814	6-8-6	418
	599397	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	33	7796	7815	6-8-6	419
	599398	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	58	7797	7816	6-8-6	420
35	599399	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	23	7798	7817	6-8-6	421
	599400	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAA	54	7799	7818	6-8-6	422
	599401	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	30	7800	7819	6-8-6	423
	599402	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	25	7801	7820	6-8-6	424
40	599403	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	17	7802	7821	6-8-6	425
	599404	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	20	7803	7822	6-8-6	426
	599405	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	12	7804	7823	6-8-6	427
	599406	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	51	7805	7824	6-8-6	428
45	599407	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	39	7806	7825	6-8-6	237
	599408	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	53	7807	7826	6-8-6	429
	599409	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	65	7808	7827	6-8-6	430
	599410	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCCC	56	7809	7828	6-8-6	431
50	599411	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	60	7810	7829	6-8-6	432
	599412	2576	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACC	61	7811	7830	6-8-6	433
	599413	2577	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	40	7812	7831	6-8-6	238
	599414	2578	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAAA	41	7813	7832	6-8-6	434
	599415	2579	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGAA	37	7814	7833	6-8-6	435
55	599416	2580	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGGA	54	7815	7834	6-8-6	436
	599417	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAGG	36	7816	7835	6-8-6	437
	599418	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCAG	53	7817	7836	6-8-6	438
	599419	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGCA	54	7818	7837	6-8-6	439
60	599420	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAGC	50	7819	7838	6-8-6	440
	599421	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCAG	48	7820	7839	6-8-6	441
	599422	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCCA	55	7821	7840	6-8-6	442
	599423	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	75	7822	7841	6-8-6	443
65	599424	2588	2607	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	69	7823	7842	6-8-6	444

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599425	2589	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	77	7824	7843	6-8-6	445
	599426	2590	2609	Exón 18	AATTCATCCCACGCCCTG	60	7825	7844	6-8-6	446
10	599427	2591	2610	Exón 18	TAATTCATCCCACGCCCT	72	7826	7845	6-8-6	447
	599428	2592	2611	Exón 18	TTAATTCATCCCACGCCCC	81	7827	7846	6-8-6	448
	599429	2593	2612	Exón 18	TTTAATTCATCCCACGCC	68	7828	7847	6-8-6	449
	599430	2594	2613	Exón 18	TTTTAATTCATCCCACGCC	58	7829	7848	6-8-6	450
15	599431	2595	2614	Exón 18	GTTTTAATTCATCCCACGC	70	7830	7849	6-8-6	451
	599432	2596	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCATCCCACG	85	7831	7850	6-8-6	452
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	85	7839	7858	5-10-5	317
	599379	2604	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCA	73	7839	7857	5-9-5	730
20	599380	2605	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC	77	7840	7858	5-9-5	731
	599381	2606	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATT	69	7841	7859	5-9-5	732
	599382	2607	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAAT	58	7842	7860	5-9-5	733
	599383	2608	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTAA	52	7843	7861	5-9-5	734
25	599384	2609	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTTA	63	7844	7862	5-9-5	735
	599385	2610	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTTT	53	n/a	n/a	5-9-5	736
	599386	2611	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTTTT	63	n/a	n/a	5-9-5	737
30	599387	2612	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGTT	64	n/a	n/a	5-9-5	438
	599388	2613	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTGT	66	n/a	n/a	5-9-5	739

Tabla 146

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
40	599213	2553	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTC	0	7788	7805	3-10-5	785
	599214	2554	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCT	0	7789	7806	3-10-5	786
45	599215	2555	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCC	36	7790	7807	3-10-5	787
	599216	2556	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATC	8	7791	7808	3-10-5	788
	599217	2557	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAAT	5	7792	7809	3-10-5	789
	599218	2558	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7810	3-10-5	790
50	599219	2559	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAA	8	7794	7811	3-10-5	791
	599220	2560	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCA	0	7795	7812	3-10-5	740
	599221	2561	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCC	54	7796	7813	3-10-5	741
	599222	2562	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACC	3	7797	7814	3-10-5	742
55	599223	2563	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAAC	0	7798	7815	3-10-5	743
	599224	2564	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAA	0	7799	7816	3-10-5	744
	599225	2566	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAA	60	7801	7818	3-10-5	745
	599226	2567	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7819	3-10-5	746
60	599227	2568	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAG	37	7803	7820	3-10-5	747
	599228	2569	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATA	0	7804	7821	3-10-5	748
	599229	2570	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTAT	39	7805	7822	3-10-5	749
	599230	2571	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTA	10	7806	7823	3-10-5	750
65	599231	2572	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTT	16	7807	7824	3-10-5	751

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
	Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:
5	599232	2573	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCT	9	7808	7825	3-10-5	752
	599233	2574	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCC	44	7809	7826	3-10-5	753
10	599234	2575	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCC	14	7810	7827	3-10-5	754
	599235	2576	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACC	0	7811	7828	3-10-5	755
	599236	2577	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAAC	43	7812	7829	3-10-5	756
	599237	2578	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAA	0	7813	7830	3-10-5	757
15	599238	2580	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGA	9	7815	7832	3-10-5	758
	599239	2581	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGG	36	7816	7833	3-10-5	759
	599240	2582	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAG	11	7817	7834	3-10-5	760
	599241	2583	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCA	51	7818	7835	3-10-5	761
20	599242	2584	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGC	7	7819	7836	3-10-5	762
	599243	2585	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAG	47	7820	7837	3-10-5	763
	599244	2586	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCA	37	7821	7838	3-10-5	764
	599245	2587	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCC	35	7822	7839	3-10-5	765
25	599246	2588	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTC	21	7823	7840	3-10-5	766
	599247	2589	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGT	61	7824	7841	3-10-5	767
	599248	2590	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTG	51	7825	7842	3-10-5	768
	599249	2591	2608	Exón 18	ATCAATCCCACGCCCT	58	7826	7843	3-10-5	769
30	599250	2592	2609	Exón 18	AATCAATCCCACGCCCC	49	7827	7844	3-10-5	770
	599251	2593	2610	Exón 18	TAATCAATCCCACGCC	46	7828	7845	3-10-5	771
	599252	2594	2611	Exón 18	TTAATCAATCCCACGCC	32	7829	7846	3-10-5	772
	599253	2595	2612	Exón 18	TTTAATCAATCCCACGC	23	7830	7847	3-10-5	773
35	599254	2596	2613	Exón 18	TTTTAATCAATCCCACG	0	7831	7848	3-10-5	774
	599255	2597	2614	Exón 18	GTTTTAATCAATCCCAC	61	7832	7849	3-10-5	775
	599256	2598	2615	Exón 18	TGTTTTAATCAATCCCA	64	7833	7850	3-10-5	776
	599257	2599	2616	Exón 18	CTGTTTTAATCAATCCC	66	7834	7851	3-10-5	777
40	599258	2600	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATCAATCC	59	7835	7852	3-10-5	778
	599259	2601	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATCAATC	40	7836	7853	3-10-5	779
	599260	2602	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATCAAT	38	7837	7854	3-10-5	780
	599261	2603	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATCAA	54	7838	7855	3-10-5	781
45	599509	2552	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTCA	54	7787	7805	6-7-6	681
	599273	2553	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTC	0	7788	7806	6-7-6	682
	599274	2554	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCT	57	7789	7807	6-7-6	683
	599275	2556	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATC	0	7791	7809	6-7-6	684
	599276	2557	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAAT	44	7792	7810	6-7-6	685
50	599277	2558	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7811	6-7-6	686
	599278	2559	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA	0	7794	7812	6-7-6	687
	599279	2560	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCA	20	7795	7813	6-7-6	688
	599280	2561	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCC	70	7796	7814	6-7-6	689
55	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	85	7839	7858	5-10-5	317
	599262	2604	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCA	49	7839	7856	3-10-5	782
	599263	2605	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTC	49	7840	7857	3-10-5	783
	599264	2606	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT	62	7841	7858	3-10-5	784
60	599265	2607	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAAT	63	7842	7859	3-10-5	792
	599266	2608	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAA	41	7843	7860	3-10-5	793
	599267	2609	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTA	52	7844	7861	3-10-5	794
	599268	2610	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTT	51	7845	7862	3-10-5	795

65

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gampers de MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2										
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Motivo	SEQ ID NO:	
5	599269	2611	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	58	n/a	n/a	3-10-5	796
10	599270	2612	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTT	69	n/a	n/a	3-10-5	797
	599271	2613	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGT	69	n/a	n/a	3-10-5	798
15	599272	2614	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTG	72	n/a	n/a	3-10-5	799
	599205	2607	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAAT	54	7842	7859	5-8-5	792
	599206	2608	2625	Exón 18	TTGTGTCGCAGCTGTTTTAA	62	7843	7860	5-8-5	793
	599207	2609	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTA	62	7844	7861	5-8-5	794
20	599208	2610	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTT	66	7845	7862	5-8-5	795
	599209	2611	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	60	n/a	n/a	5-8-5	796
	599210	2612	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTT	62	n/a	n/a	5-8-5	797
25	599211	2613	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGT	65	n/a	n/a	5-8-5	798
30	599212	2614	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTG	67	n/a	n/a	5-8-5	799

Tabla 147

Inhibición de ARNm de CFB por gampers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO:	
35	588570	150	169	Exón 1	TGGTCACATTCCCTTCCCCT	72	1871	1890	396
40	588571	152	171	Exón 1	CCTGGTCACATTCCCTCCC	80	1873	1892	397
	532614	154	173	Exón 1	GACCTGGTCACATTCCCTC	65	1875	1894	12
	588572	156	175	Exón 1	TAGACCTGGTCACATTCCCT	74	1877	1896	398
	588573	158	177	Exón 1	CCTAGACCTGGTCACATTCC	72	1879	1898	399
45	588566	2189	2208	Exón 15	CCTTCCGAGTCAGCTTTTTC	66	6977	6996	400
	588567	2191	2210	Exón 15	CTCCTTCCGAGTCAGCTTTT	66	6979	6998	401
	532770	2193	2212	Exón 15	ACCTCCTTCCGAGTCAGCTT	64	6981	7000	198
	588568	2195	2214	Exón 15	AGACCTCCTTCCGAGTCAGC	78	6983	7002	402
50	588569	2197	2216	Exón 15	GTAGACCTCCTTCCGAGTCA	74	6985	7004	403
	588574	2453	2472	Exón 18	TTTGCCGCTTCTGGTTTTTG	71	7688	7707	404
	588575	2455	2474	Exón 18	CTTTTGCCGCTTCTGGTTTT	72	7690	7709	405
	532800	2457	2476	Exón 18	TGCTTTTGCCGCTTCTGGTT	71	7692	7711	228
	588576	2459	2478	Exón 18	CCTGCTTTTGCCGCTTCTGG	59	7694	7713	406
55	588577	2461	2480	Exón 18	TACCTGCTTTTGCCGCTTCT	76	7696	7715	407
	516350	2550	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTCATC	58	7785	7804	408
	588509	2551	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTCAT	6	7786	7805	409
	588510	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	10	7787	7806	410
60	588511	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	9	7788	7807	411
	588512	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	80	7789	7808	412
	588513	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	70	7790	7809	413
	588514	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	71	7791	7810	414
65	588515	2557	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	78	7792	7811	415

ES 2 745 825 T3

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gapmers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2									
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO:	
5	588516	2558	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAA	72	7793	7812	416
	588517	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	80	7794	7813	417
10	588518	2560	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCCA	80	7795	7814	418
	588519	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	62	7796	7815	419
	588520	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	59	7797	7816	420
	588521	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	40	7798	7817	421
15	588522	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAA	66	7799	7818	422
	588523	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	63	7800	7819	423
	588524	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	70	7801	7820	424
	588525	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	67	7802	7821	425
20	588526	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	0	7803	7822	426
	588527	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	11	7804	7823	427
	588528	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	15	7805	7824	428
	532809	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	75	7806	7825	237
25	588529	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	16	7807	7826	429
	588530	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	16	7808	7827	430
	588531	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCCC	19	7809	7828	431
	588532	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	15	7810	7829	432
30	588533	2576	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACC	29	7811	7830	433
	532810	2577	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	74	7812	7831	238
	588534	2578	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAAA	21	7813	7832	434
	588535	2579	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGAA	16	7814	7833	435
35	588536	2580	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGGA	0	7815	7834	436
	588537	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAGG	8	7816	7835	437
	588538	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCAG	10	7817	7836	438
	588539	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGCA	23	7818	7837	439
40	588540	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAGC	16	7819	7838	440
	588541	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCAG	16	7820	7839	441
	588542	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCCA	12	7821	7840	442
	588543	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	26	7822	7841	443
45	588544	2588	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTGTCC	26	7823	7842	444
	588545	2589	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	31	7824	7843	445
	588546	2590	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCTG	22	7825	7844	446
	588547	2591	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCT	12	7826	7845	447
	588548	2592	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCCC	20	7827	7846	448
50	588549	2593	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	26	7828	7847	449
	588550	2594	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGCC	32	7829	7848	450
	588551	2595	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCACGC	48	7830	7849	451
	588552	2596	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCACG	57	7831	7850	452
55	588553	2597	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCAC	49	7832	7851	453
	588554	2598	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCCA	64	7833	7852	454
	532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	78	7834	7853	239
	588555	2600	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATCC	48	7835	7854	455
60	588556	2601	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAATC	55	7836	7855	456
	588557	2602	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAAT	51	7837	7856	457
	588558	2603	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCAA	51	7838	7857	458
	532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	82	7839	7858	317
65	588559	2605	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATTC	58	7840	7859	459

(continuación)

Inhibición de ARNm de CFB por gampers de 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2								
Nº de ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO:
588560	2606	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAATT	72	7841	7860	460
588561	2607	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTAAT	75	7842	7861	461
532952	2608	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTTAA	39	7843	7862	395
588562	2609	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTTTA	53	n/a	n/a	462
588563	2610	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTTTT	62	n/a	n/a	463
588564	2611	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGTTT	63	n/a	n/a	464
588565	2612	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTGTT	64	n/a	n/a	465

Ejemplo 122 Inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB humano en células HepG2 por gampers 5-10-5 MOE

Se seleccionaron gampers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* del ARNm de CFB y se probaron a varias dosis en células HepG2. Las células se colocaron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectoron usando electroporación con concentraciones de 0,313 μ M, 0,625 μ M, 1,25 μ M, 2,50 μ M, 5,00 μ M o 10,00 μ M de oligonucleótido antisentido, como se especifica en la Tabla siguiente. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de sondas de cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora media máxima (IC_{50}) de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de CFB se redujeron de manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 148

Nº de ISIS	0.313 μ M	0.625 μ M	1.25 μ M	2.50 μ M	5.00 μ M	10.00 μ M	IC_{50} (μ M)
532614	7	13	43	72	65	71	2.2
532635	12	0	3	28	0	0	>10
532692	26	0	12	52	55	74	3.7
532770	21	18	32	73	64	88	1.8
532775	8	0	26	35	47	59	6.2
532800	0	5	30	65	50	75	3.1
532809	12	30	28	40	46	66	4.6
532810	28	44	32	69	84	95	1.2
532811	66	83	90	94	97	99	<0.3
532917	64	85	88	96	97	99	<0.3
532952	50	53	68	80	91	94	0.4

Ejemplo 123 Inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB humano en células HepG2

Se seleccionaron gampers de los estudios descritos anteriormente que mostraron inhibición *in vitro* del ARNm de CFB y se probaron a varias dosis en células HepG2. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en varios experimentos con condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Las células se colocaron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectoron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,08 μ M, 0,25 μ M, 0,74 μ M, 2,22 μ M, 6,67 μ M y 20,00 μ M, como se especifica en la Tabla siguiente. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de sondas de cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN,

ES 2 745 825 T3

medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control no tratadas.

5 También se presenta la concentración inhibidora media máxima (IC₅₀) de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de CFB se redujeron de manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido

Tabla 149

Nº de ISIS	0.08 µM	0.25 µM	0.74 µM	2.22 µM	6.67 µM	20.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532811	19	53	81	87	96	97	0.2
588834	7	42	64	92	98	98	0.5
588835	11	30	66	89	97	97	0.5
588836	14	40	61	91	97	97	0.5
588837	6	39	67	89	96	97	0.5
588838	0	27	41	81	87	97	1.0
588842	17	51	68	86	93	95	0.3
588843	21	38	72	90	95	96	0.4
588870	9	31	56	88	95	97	0.6
588871	14	25	47	79	93	97	0.7
588872	18	28	59	84	92	97	0.6

Tabla 150

Nº de ISIS	0.08 µM	0.25 µM	0.74 µM	2.22 µM	6.67 µM	20.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532811	31	70	89	94	97	97	0.1
588844	31	60	77	91	95	96	0.1
588846	32	52	78	89	95	97	0.2
588847	22	52	77	91	95	97	0.2
588848	20	40	73	91	96	98	0.3
588851	40	52	82	94	97	97	0.1
588854	17	55	59	84	94	96	0.4
588855	10	32	56	82	93	96	0.6
588856	13	46	75	90	96	97	0.3
588857	11	52	73	94	96	97	0.3
588858	19	48	75	94	97	98	0.3

Tabla 151

Nº de ISIS	0.08 µM	0.25 µM	0.74 µM	2.22 µM	6.67 µM	20.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532811	42	66	88	96	97	98	0.1
588859	18	46	66	90	96	97	0.4
588860	55	80	94	97	97	97	<0.1
588861	24	61	86	93	96	97	0.2
588862	25	64	85	94	96	98	0.1
588863	50	73	89	96	96	98	<0.1
588864	52	80	92	96	98	98	<0.1
588865	46	72	91	96	96	99	<0.1
588866	47	76	88	96	97	98	<0.1
588867	43	69	83	92	96	99	0.1
588868	43	56	65	84	93	97	0.1

Tabla 152

Nº de ISIS	0.08 µM	0.25 µM	0.74 µM	2.22 µM	6.67 µM	20.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532810	0	14	38	72	89	96	1.2
532811	18	54	79	93	96	97	0.3
532952	19	34	73	87	94	96	0.4

(continuación)

N° de ISIS	0.08 μ M	0.25 μ M	0.74 μ M	2.22 μ M	6.67 μ M	20.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
588534	17	13	44	77	93	97	0.9
588544	12	43	69	86	89	93	0.4
588545	17	55	67	86	91	93	0.3
588546	10	32	67	85	91	93	0.6
588552	27	54	76	90	94	97	0.2
588553	32	68	87	93	95	97	0.1
588560	16	54	76	90	94	96	0.3
588561	18	45	68	85	93	96	0.4

Tabla 153

N° de ISIS	0.08 μ M	0.25 μ M	0.74 μ M	2.22 μ M	6.67 μ M	20.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
532811	22	60	82	94	97	98	0.2
588536	2	38	65	90	96	97	0.6
588537	12	38	63	87	94	97	0.5
588547	19	35	61	86	93	97	0.5
588548	19	36	75	88	95	96	0.4
588554	0	76	92	95	97	97	<0.1
588555	31	61	89	96	97	98	0.1
588556	33	56	82	95	94	97	0.1
588562	12	39	71	87	94	97	0.4
588563	25	48	72	86	94	96	0.3
588564	15	33	63	89	91	97	0.5

Tabla 154

N° de ISIS	0.08 μ M	0.25 μ M	0.74 μ M	2.22 μ M	6.67 μ M	20.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
532811	39	68	86	96	98	98	0.1
588538	0	40	82	94	97	98	0.3
588539	34	65	88	95	98	98	0.1
588540	30	51	81	91	97	98	0.2
588549	31	57	82	95	96	98	0.1
588550	34	65	88	96	98	98	0.1
588551	47	66	87	96	98	99	<0.1
588557	40	84	95	98	98	98	<0.1
588558	45	73	93	97	98	99	<0.1
588559	51	69	83	96	98	99	<0.1
588565	19	56	81	92	96	98	0.2

Ejemplo 124: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB humano en células HepG2

Se seleccionaron gampers de los estudios descritos anteriormente que mostraron inhibición *in vitro* del ARNm de CFB y se probaron a varias dosis en células HepG2. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en varios experimentos con condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Las células se colocaron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 0,06 μ M, 0,25 μ M, 1,00 μ M y 4,00 μ M de oligonucleótido antisentido, como se especifica en la Tabla siguiente. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles del ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de sondas de cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control sin tratar.

También se presenta la concentración inhibidora media máxima (IC₅₀) de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de CFB se redujeron de manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 155

N° de ISIS	0.06 μ M	0.25 μ M	1.00 μ M	4.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
532917	31	58	87	92	0.2
588860	18	50	79	93	0.3
599001	16	28	69	90	0.5
599024	14	32	74	90	0.4
599025	0	31	56	92	0.7
599032	28	44	62	88	0.3
599033	28	46	80	92	0.2
599077	8	20	59	80	0.8
599080	9	33	48	76	0.9
599086	7	22	53	83	0.8
599087	21	31	74	87	0.4
599088	13	37	69	82	0.5
599089	3	36	55	79	0.7
599093	25	59	79	88	0.2
599094	19	29	75	89	0.4
599095	29	43	67	87	0.3
599096	23	51	70	88	0.3
599149	20	53	82	92	0.3
599188	0	21	62	85	0.8

Tabla 156

N° de ISIS	0.06 μ M	0.25 μ M	1.00 μ M	4.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
532917	0	42	81	91	0.4
588860	17	49	74	92	0.3
599155	29	52	67	87	0.3
599198	3	25	64	89	0.6
599201	13	26	67	91	0.5
599202	0	44	72	87	0.5
599203	22	41	75	88	0.3
599314	12	34	71	84	0.5
599316	7	37	66	88	0.5
599317	8	1	54	83	1.0
599321	8	33	70	85	0.5
599322	24	38	66	87	0.4
599327	22	32	66	89	0.4
599328	0	31	59	88	0.7
599330	5	43	67	84	0.5
599374	23	42	80	91	0.3
599378	21	57	80	93	0.2
599380	23	56	82	93	0.2
599432	17	37	73	93	0.4

Tabla 157

N° de ISIS	0.06 μ M	0.25 μ M	1.00 μ M	4.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
532917	23	65	76	93	0.2
588860	17	60	76	90	0.3
601282	48	68	81	88	0.1
601269	18	59	80	94	0.2
601276	34	64	81	91	0.1
601275	14	39	78	90	0.4
601344	52	84	92	94	<0.06
601383	53	81	86	94	<0.06

(continuación)

Nº de ISIS	0.06 µM	0.25 µM	1.00 µM	4.00 µM	IC ₅₀ (µM)
601382	41	76	88	94	0.1
601385	52	74	89	91	<0.06
601332	41	69	86	94	0.1
601345	36	75	86	95	0.1
601371	34	72	91	93	0.1
601384	50	78	91	95	<0.06
601380	28	57	83	92	0.2
601387	48	61	82	88	0.1
601341	28	65	83	91	0.2
601346	31	69	82	93	0.1
601335	24	56	85	92	0.2

Tabla 158

Nº de ISIS	0.06 µM	0.25 µM	1.00 µM	4.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532917	31	66	86	93	0.1
588860	28	62	85	94	0.2
599208	24	50	71	89	0.3
599261	31	49	81	94	0.2
599267	41	48	80	88	0.2
599268	28	56	75	92	0.2
599313	14	24	71	92	0.5
599441	24	57	80	87	0.2
599494	13	55	86	94	0.3
599552	30	69	93	95	0.1
599553	34	71	93	96	0.1
599554	30	74	93	96	0.1
599568	40	77	90	97	0.1
599570	61	82	93	96	<0.06
599577	18	62	81	93	0.2
599581	27	60	80	94	0.2
599591	49	74	93	96	<0.06
599592	46	76	90	94	0.1
599593	44	72	91	95	0.1

Tabla 159

ISIS No	0.06 µM	0.25 µM	1.00 µM	4.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532917	25	56	84	92	0.2
588860	11	51	80	92	0.3
599547	23	60	82	90	0.2
599569	42	73	85	88	0.1
599578	29	49	82	89	0.2
599582	21	56	78	91	0.2
599590	24	62	80	90	0.2
601209	21	49	85	88	0.3
601210	34	64	86	92	0.1
601212	46	68	88	90	0.1
601213	54	80	90	92	<0.06
601214	38	77	88	95	0.1
601215	42	64	85	92	0.1
601216	45	57	76	89	0.1
601264	29	58	86	95	0.2
601278	51	82	83	93	<0.06

(continuación)

ISIS No	0.06 μ M	0.25 μ M	1.00 μ M	4.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
601279	44	80	92	96	0.1
601280	44	73	87	94	0.1
601281	51	80	91	94	<0.06

Ejemplo 125: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB humano en células HepG2

Se seleccionaron gappers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* del ARNm de CFB y se probaron a varias dosis en células HepG2. Además, se diseñó un oligonucleótido desoxi, MOE y (S)-cEt, ISIS 594430, con la misma secuencia (CTCCTTCCGAGTCAGC, SEQ ID NO: 549) y región objetivo (sitio de inicio objetivo 2195 de la SEQ ID NO: 1 y sitio de inicio objetivo 6983 de SEQ ID NO: 2) como ISIS 588870, otro oligonucleótido desoxi, MOE y (S)-cEt. ISIS 594430 es un gapper de (S)-cEt 3-10-3.

Las células se colocaron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,01 μ M, 0,04 μ M, 0,12 μ M, 0,37 μ M, 1,11 μ M, 3,33 μ M y 10,00 μ M, como se especifica en la Tabla siguiente. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de sondas de cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora media máxima (IC₅₀) para cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de CFB se redujeron de manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 160

Nº de ISIS	0.01 μ M	0.04 μ M	0.12 μ M	0.37 μ M	1.11 μ M	3.33 μ M	10.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
588536	0	0	0	5	45	73	94	1.4
588548	0	0	0	19	52	78	90	1.2
588553	0	0	9	42	76	85	94	0.6
588555	0	52	23	58	78	83	95	0.3
588847	4	1	18	45	67	84	96	0.5
588848	0	3	13	38	67	83	95	0.6
594430	0	0	10	34	50	55	84	1.4

Ejemplo 126: Tolerabilidad de gappers de MOE dirigidos a CFB humano en ratones CD1

Los ratones CD1® (Charles River, MA) son un modelo de ratón multipropósito, utilizado frecuentemente para pruebas de seguridad y eficacia. Los ratones se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de los estudios descritos anteriormente y se evaluaron los cambios en los niveles de varios marcadores de química del plasma.

Estudio 1 (con gappers de 5-10-5 MOE)

Se inyectaron subcutáneamente a ratones CD1 machos de siete semanas de edad una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótido ISIS. Un grupo de ratones CD1 macho se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Un grupo de ratones se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con 100 mg/kg del oligonucleótido de control ISIS 141923 (CCTTCCCTGAAGGTTCTCC, designado en la presente como SEQ ID NO: 809, gapper de 5-10-5 MOE sin objetivo murino conocido). Los ratones se sometieron a eutanasia 48 horas después de la última dosis y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Marcadores de química del plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles de plasma de las transaminasas y BUN utilizando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal o hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 161

Marcadores de química del plasma en plasma de ratones CD1 en el día 40			
	ALT (IU/l)	AST (IU/l)	BUN (mg/dl)
PBS	25	46	20
ISIS 532614	513	407	22
ISIS 532692	131	130	24
ISIS 532770	36	53	25
ISIS 532775	193	158	23
ISIS 532800	127	110	25
ISIS 532809	36	42	22
ISIS 532810	229	286	26
ISIS 532811	197	183	21
ISIS 532917	207	204	27
ISIS 532952	246	207	25
ISIS 141923	39	67	23

20 *Pesos*

25 Se midieron los pesos corporales de los ratones el día 40 antes de sacrificar a los ratones. Los pesos de los órganos, el hígado, el riñón y el bazo también se midieron después de sacrificar a los ratones. Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 162

Pesos (g) of ratones CD1 en el día 40				
	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	44	0.8	2.0	0.1
ISIS 532614	43	0.7	4.3	0.2
ISIS 532692	42	0.7	2.6	0.2
ISIS 532770	42	0.6	2.3	0.2
ISIS 532775	42	0.7	2.5	0.2
ISIS 532800	43	0.6	2.8	0.3
ISIS 532809	42	0.6	2.2	0.1
ISIS 532810	43	0.6	2.3	0.2
ISIS 532811	41	0.7	2.4	0.2
ISIS 532917	42	0.7	3.0	0.2
ISIS 532952	44	0.8	2.5	0.3
ISIS 141923	41	0.6	2.0	0.1

45

Estudio 2 (con gapmers de 5-10-5 MOE)

50 Se inyectaron a grupos de ratones CD1 machos de seis a ocho semanas de edad subcutáneamente una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótido ISIS. Dos grupos de ratones CD1 macho se inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Un grupo de ratones se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con 100 mg/kg del oligonucleótido de control ISIS 141923. Los ratones se sometieron a eutanasia 48 horas después de la última dosis, y se recogieron los órganos y el plasma para análisis adicional.

55 *Marcadores de química del plasma*

60 Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, albúmina y BUN usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de la función renal o hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

65

Tabla 163

Marcadores de química del plasma en plasma de ratones CD1 en el día 45				
	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	39	53	2.9	29
PBS	50	97	2.9	30
ISIS 141923	163	174	4.1	25
ISIS 532810	321	297	2.5	26
ISIS 532952	182	199	2.7	27
ISIS 588534	276	248	2.6	29
ISIS 588536	48	60	2.9	31
ISIS 588537	72	79	4.0	25
ISIS 588538	63	67	4.5	29
ISIS 588539	238	177	3.9	28
ISIS 588545	496	256	4.4	24
ISIS 588547	323	210	4.4	25
ISIS 588548	61	63	4.2	27
ISIS 588549	127	132	4.1	23
ISIS 588551	302	282	4.2	22
ISIS 588552	76	98	4.0	30
ISIS 588558	1066	521	3.9	27
ISIS 588559	76	94	4.1	26
ISIS 588561	502	500	4.4	26
ISIS 588563	50	99	4.4	28

30 *Pesos*

Se midieron los pesos corporales de los ratones el día 42. Los pesos de los órganos, el hígado, el riñón y el bazo también se midieron después de que los ratones se sacrificasen el día 45. Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 164

Pesos (g) de ratones CD1 en el día 40				
	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	44	0.7	2.4	0.1
PBS	43	0.7	2.4	0.2
ISIS 141923	43	0.6	2.4	0.2
ISIS 532810	41	0.6	1.9	0.1
ISIS 532952	43	0.6	2.4	0.2
ISIS 588534	44	0.7	2.8	0.2
ISIS 588536	43	0.7	2.7	0.2
ISIS 588537	43	0.7	2.4	0.2
ISIS 588538	44	0.7	2.8	0.2
ISIS 588539	44	0.6	2.7	0.2
ISIS 588545	44	0.8	3.3	0.3
ISIS 588547	42	0.6	3.3	0.3
ISIS 588548	43	0.6	2.8	0.2
ISIS 588549	42	0.6	2.8	0.3
ISIS 588551	39	0.6	2.2	0.2
ISIS 588552	41	0.6	2.2	0.2
ISIS 588558	44	0.7	3.3	0.3
ISIS 588559	43	0.6	2.7	0.3
ISIS 588561	40	0.7	2.4	0.3
ISIS 588563	41	0.7	2.4	0.2

Estudio 3 (con gapmers de 5-10-5 MOE)

Se inyectaron a grupos de ratones CD1 machos de seis a ocho semanas de edad subcutáneamente una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótido ISIS. Dos grupos de ratones CD1 macho se inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Los ratones se sometieron a eutanasia 48 horas después de la última dosis y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Marcadores de química del plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasmas de transaminasas, albúmina y BUN usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal o hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 165

Marcadores de química del plasma en plasma de ratones CD1 en el día 42				
	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	37	108	3.1	30
PBS	45	51	3.0	27
ISIS 588544	209	168	2.9	26
ISIS 588546	526	279	3.0	22
ISIS 588550	82	136	2.7	25
ISIS 588553	79	105	3.0	24
ISIS 588554	112	220	3.2	19
ISIS 588555	95	162	2.8	25
ISIS 588556	345	236	3.0	26
ISIS 588557	393	420	2.8	24
ISIS 588560	109	148	2.7	27
ISIS 588562	279	284	2.8	22
ISIS 588564	152	188	3.0	23
ISIS 588565	247	271	2.8	28

Pesos

Se midieron los pesos corporales de los ratones el día 42. Los pesos de los órganos, el hígado, el riñón y el bazo también se midieron después de que los ratones se sacrificasen el día 42. Los resultados se presentan en la Tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 166

Pesos (g) de ratones CD1 en el día 40				
	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	42	0.7	2.4	0.1
PBS	41	0.7	2.4	0.2
ISIS 588544	44	0.6	1.9	0.1
ISIS 588546	43	0.6	2.4	0.2
ISIS 588550	41	0.7	2.8	0.2
ISIS 588553	44	0.7	2.7	0.2
ISIS 588554	40	0.7	2.4	0.2
ISIS 588555	44	0.7	2.8	0.2
ISIS 588556	39	0.6	2.7	0.2
ISIS 588557	41	0.8	3.3	0.3
ISIS 588560	38	0.6	3.2	0.3
ISIS 588562	41	0.6	2.8	0.2
ISIS 588564	40	0.6	2.8	0.3
ISIS 588565	39	0.6	2.2	0.2

Estudio 4 (con gapmers de (S) cEt y oligonucleótidos de desoxi, MOE y (S)-cEt)

Se inyectaron a grupos de ratones CD1 machos de diez semanas de edad por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótido ISIS de los estudios descritos anteriormente. Además, se diseñaron dos oligonucleótidos, ISIS 594431 e ISIS 594432, como gapmers de 3-10-3 (S)-cEt y también se probaron en este estudio. ISIS 594431 (ACCTCCTTCCGAGTCA, SEQ ID NO: 550) está dirigido a la misma región que ISIS 588871, un gapmer de desoxi, MOE y (S)-cEt (sitio de inicio objetivo 2197 de la SEQ ID NO: 1 y sitio de inicio objetivo 6985 de la SEQ ID NO: 2). ISIS 594432 (TGGTCACATTCCCTTC, SEQ ID NO: 542) está dirigido a la misma región que ISIS 588872 un gapmer de desoxi, MOE y (S)-cEt (sitio de inicio objetivo 154 de la SEQ ID NO: 1 y sitio de inicio objetivo 1875 de la SEQ ID NO: 2).

Dos grupos de ratones CD1 macho se inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Los ratones se sometieron a eutanasia 48 horas después de la última dosis y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Marcadores de química del plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, albúmina, creatinina y BUN usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal o hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 167

Marcadores de química del plasma en plasma de ratones CD1 en el día 42							
	Química	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)	
	PBS	-	71	77	2.7	0.2	29
	PBS	-	30	36	2.7	0.2	26
	ISIS 588834	Desoxi, MOE y (S)-cEt	436	510	2.8	0.2	25
	ISIS 588835	Desoxi, MOE y (S)-cEt	70	98	3.0	0.2	27
	ISIS 588836	Desoxi, MOE y (S)-cEt	442	312	2.7	0.2	27
	ISIS 588846	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	75	2.5	0.1	28
	ISIS 588847	Desoxi, MOE y (S)-cEt	44	71	2.6	0.1	24
	ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	47	70	2.4	0.1	27
	ISIS 588857	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1287	655	2.7	0.2	26
	ISIS 588858	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1169	676	2.5	0.2	26
	ISIS 588859	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1036	1300	3.2	0.2	25
	ISIS 588861	Desoxi, MOE y (S)-cEt	749	466	3.1	0.1	24
	ISIS 588862	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1564	1283	2.9	0.2	22
	ISIS 588863	Desoxi, MOE y (S)-cEt	477	362	2.8	0.1	23
	ISIS 588864	Desoxi, MOE y (S)-cEt	118	165	2.9	0.2	27
	ISIS 588866	Desoxi, MOE y (S)-cEt	843	784	3.2	0.2	25
	ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	89	99	2.4	0.1	28
	ISIS 594431	3-10-3 (S)-cEt	590	433	3.0	0.2	24
	ISIS 594432	3-10-3 (S)-cEt	2595	2865	2.4	0.1	25

Pesos

Se midieron los pesos corporales de los ratones el día 39. Los pesos de los órganos, el hígado, el riñón y el bazo también se midieron después de que los ratones se sacrificasen el día 42. Los resultados se presentan en la Tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 45

Pesos (g) de ratones CD1						
	Química	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo	
	PBS	-	37	0.6	2.1	0.1
	PBS	-	45	0.7	2.5	0.2
	ISIS 588834	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	0.6	3.2	0.2

(continuación)

Pesos (g) de ratones CD1						
5	ISIS 588835	Desoxi, MOE y (S)-cEt	38	0.7	2.8	0.3
	ISIS 588836	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0.7	2.3	0.2
	ISIS 588837	Desoxi, MOE y (S)-cEt	38	0.6	2.4	0.3
	ISIS 588846	Desoxi, MOE y (S)-cEt	39	0.6	2.3	0.2
10	ISIS 588847	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	0.7	2.5	0.2
	ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	43	0.7	2.6	0.3
	ISIS 588857	Desoxi, MOE y (S)-cEt	39	0.6	3.3	0.2
	ISIS 588858	Desoxi, MOE y (S)-cEt	37	0.6	3.4	0.2
15	ISIS 588859	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0.7	2.5	0.3
	ISIS 588861	Desoxi, MOE y (S)-cEt	39	0.6	2.6	0.4
	ISIS 588862	Desoxi, MOE y (S)-cEt	34	0.6	2.5	0.4
	ISIS 588863	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	0.6	2.7	0.3
20	ISIS 588864	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	0.7	2.3	0.2
	ISIS 588866	Desoxi, MOE y (S)-cEt	45	0.7	3.0	0.2
	ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	39	0.6	2.2	0.2
	ISIS 594431	3-10-3 (S)-cEt	36	0.6	3.2	0.2
25	ISIS 594432	3-10-3 (S)-cEt	31	0.4	1.9	0.1

Estudio 5 (con gappers de MOE, gappers de (S) cEt y oligonucleótidos de desoxi, MOE y (S)-cEt)

Se inyectaron a grupos de ratones CD1 machos de ocho a nueve semanas de edad por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótido ISIS. Dos grupos de ratones CD1 macho se inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Los ratones se sometieron a eutanasia 48 horas después de la última dosis y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Marcadores de química del plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, albúmina, creatinina y BUN usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal o hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 169

Marcadores de química del plasma en plasma de ratones CD1 en el día 42							
	Química	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)	
45	PBS	-	33	84	2.9	0.2	28
	PBS	-	32	65	2.5	0.1	27
	ISIS 532692	5-10-5 MOE	363	281	3.0	0.2	30
50	ISIS 532770	5-10-5 MOE	69	100	2.9	0.1	28
	ISIS 532775	5-10-5 MOE	371	333	2.6	0.1	29
	ISIS 532800	5-10-5 MOE	104	106	2.7	0.1	31
	ISIS 532809	5-10-5 MOE	69	127	2.8	0.1	26
	ISIS 588540	5-10-5 MOE	66	110	2.8	0.1	26
55	ISIS 588838	3-10-3 (S)-cEt	391	330	2.9	0.1	25
	ISIS 588842	Desoxi, MOE y (S)-cEt	224	264	2.6	0.1	26
	ISIS 588843	3-10-3 (S)-cEt	185	160	2.8	0.1	24
	ISIS 588844	Desoxi, MOE y (S)-cEt	304	204	2.7	0.1	25
60	ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	186	123	2.7	0.1	31
	ISIS 588854	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1232	925	2.7	0.1	25
	ISIS 588855	Desoxi, MOE y (S)-cEt	425	321	2.7	0.1	28
	ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	78	101	2.4	0.1	31
65	ISIS 588865	Desoxi, MOE y (S)-cEt	126	145	2.5	0.1	23
	ISIS 588867	Desoxi, MOE y (S)-cEt	108	112	2.5	0.1	32

(continuación)

Marcadores de química del plasma en plasma de ratones CD1 en el día 42							
	Química	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albumina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)	
5	ISIS 588868	Desoxi, MOE y (S)-cEt	61	124	2.5	0.1	28
	ISIS 588870	Desoxi, MOE y (S)-cEt	48	69	2.4	0.1	31
	ISIS 588871	Desoxi, MOE y (S)-cEt	723	881	2.5	0.1	24
10	ISIS 588872	Desoxi, MOE y (S)-cEt	649	654	2.7	0.1	26

Pesos

15 Se midieron los pesos corporales de los ratones el día 40. Los pesos de los órganos, el hígado, el riñón y el bazo también se midieron después de que los ratones se sacrificasen el día 42. Los resultados se presentan en la Tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 170

Pesos (g) de ratones CD1						
	Química	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo	
	PBS	-	46	0.7	2.3	0.2
25	PBS	-	44	0.7	2.3	0.2
	ISIS 532692	5-10-5 MOE	44	0.6	2.8	0.2
	ISIS 532770	5-10-5 MOE	43	0.6	2.2	0.2
	ISIS 532775	5-10-5 MOE	43	0.6	2.8	0.2
30	ISIS 532800	5-10-5 MOE	47	0.7	2.9	0.2
	ISIS 532809	5-10-5 MOE	44	0.7	2.6	0.2
	ISIS 588540	5-10-5 MOE	44	0.7	2.5	0.2
	ISIS 588838	3-10-3 (S)-cEt	45	0.7	3.1	0.2
35	ISIS 588842	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0.6	2.6	0.2
	ISIS 588843	3-10-3 (S)-cEt	43	0.7	2.9	0.2
	ISIS 588844	Desoxi, MOE y (S)-cEt	43	0.7	2.8	0.2
	ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	46	0.6	2.6	0.2
40	ISIS 588854	Desoxi, MOE y (S)-cEt	45	0.7	4.1	0.2
	ISIS 588855	Desoxi, MOE y (S)-cEt	44	0.7	2.9	0.3
	ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	44	0.7	3.2	0.2
	ISIS 588865	Desoxi, MOE y (S)-cEt	45	0.7	2.6	0.3
45	ISIS 588867	Desoxi, MOE y (S)-cEt	46	0.7	3.2	0.3
	ISIS 588868	Desoxi, MOE y (S)-cEt	42	0.7	2.9	0.3
	ISIS 588870	Desoxi, MOE y (S)-cEt	43	0.6	2.2	0.2
	ISIS 588871	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0.7	3.1	0.2
50	ISIS 588872	Desoxi, MOE y (S)-cEt	39	0.6	3.2	0.3

Estudio 6 (con oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt)

55 Se inyectaron a grupos de ratones CD1 macho de ocho a nueve semanas de edad por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt. Dos grupos de ratones CD1 macho se inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Los ratones se sometieron a eutanasia 48 horas después de la última dosis y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Marcadores de química del plasma

60 Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, albúmina, creatinina, bilirrubina y BUN utilizando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal o hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 171

Marcadores de química del plasma en plasma de ratones CD1 en el día 45							
	ALT (UI/50)	AST (IUI/l)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	Bilirrubina (mg/dl)	BUN (mg/dl)	
5	PBS	39	78	3.4	0.2	0.2	31
	PBS	37	59	2.9	0.1	0.2	27
	ISIS 599552	167	208	3.0	0.1	0.2	32
10	ISIS 599553	43	86	2.9	0.1	0.2	28
	ISIS 599554	57	101	2.2	0.2	0.2	31
	ISIS 599569	469	530	3.5	0.2	0.3	27
	ISIS 599577	37	84	2.9	0.1	0.1	31
15	ISIS 599578	45	104	2.8	0.1	0.2	30
	ISIS 599581	54	88	3.1	0.1	0.2	31
	ISIS 599590	1741	1466	3.1	0.1	0.3	25
	ISIS 599591	2230	1183	3.2	0.1	0.3	27
20	ISIS 601209	68	104	2.9	0.1	0.2	30
	ISIS 601212	1795	968	3.2	0.1	0.3	22
	ISIS 601215	424	385	3.1	0.1	0.4	25
	ISIS 601216	90	125	2.9	0.1	0.2	29
	ISIS 601276	946	366	2.9	0.1	0.5	31
25	ISIS 601282	831	540	3.3	0.2	0.2	32

Pesos

30 Se midieron los pesos corporales de los ratones el día 40. Los pesos de los órganos, el hígado, el riñón y el bazo también se midieron después de que los ratones se sacrificasen el día 45. Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 172

Pesos (g) de ratones CD1					
	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo	
35	PBS	40	0.7	2.1	0.2
	PBS	42	0.8	2.3	0.2
40	ISIS 599552	38	0.6	2.3	0.2
	ISIS 599553	39	0.7	2.2	0.2
	ISIS 599554	39	0.7	2.4	0.2
	ISIS 599569	39	0.7	2.2	0.2
45	ISIS 599577	41	0.7	2.5	0.2
	ISIS 599578	37	0.6	2.0	0.2
	ISIS 599581	40	0.6	2.5	0.2
	ISIS 599590	34	0.6	3.5	0.2
50	ISIS 599591	38	0.8	2.7	0.2
	ISIS 601209	42	0.7	2.6	0.3
	ISIS 601212	38	0.6	2.9	0.2
	ISIS 601215	36	0.7	2.6	0.2
55	ISIS 601216	42	0.6	2.7	0.2
	ISIS 601276	42	0.7	3.2	0.2
	ISIS 601282	38	0.7	3.2	0.2

60 Estudio 7 (con gapmers de MOE y desoxi, oligonucleótidos MOE y (S)-cEt)

65 Se inyectaron a grupos de ratones CD1 macho de ocho a nueve semanas de edad subcutáneamente una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótidos ISIS. Un grupo de ratones CD1 macho se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Los ratones se sometieron a eutanasia 48 horas después de la última dosis y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Marcadores de química del plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS en la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, albúmina, creatinina y BUN usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal o hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 173

Marcadores de química del plasma en plasma de ratones CD1 en el día 45						
	Química	ALT (U/l/50)	AST (U/l/)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	-	120	102	2.7	0.2	26
ISIS 588842	Desoxi, MOE y (S)-cEt	177	164	2.7	0.1	23
ISIS 588843	Desoxi, MOE y (S)-cEt	98	194	2.7	0.1	24
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	91	142	2.6	0.1	23
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	78	110	2.7	0.1	23
ISIS 599024	3-10-4 MOE	91	108	2.7	0.1	23
ISIS 599087	5-7-5 MOE	198	183	2.6	0.2	28
ISIS 599093	5-7-5 MOE	3285	2518	2.6	0.2	24
ISIS 599149	4-8-5 MOE	30	64	2.9	0.2	25
ISIS 599155	4-8-5 MOE	145	189	2.6	0.2	25
ISIS 599202	5-8-5 MOE	150	128	2.8	0.2	23
ISIS 599203	5-8-5 MOE	111	127	2.8	0.2	24
ISIS 599208	5-8-5 MOE	146	178	2.9	0.2	22
ISIS 599261	3-10-5 MOE	144	165	2.8	0.2	26
ISIS 599267	3-10-5 MOE	96	132	2.6	0.2	27
ISIS 599268	3-10-5 MOE	87	115	2.6	0.1	23
ISIS 599322	6-7-6 MOE	115	138	2.7	0.1	22
ISIS 599374	5-9-5 MOE	375	271	2.6	0.1	21
ISIS 599378	5-9-5 MOE	77	99	2.7	0.1	23
ISIS 599441	6-8-6 MOE	150	250	2.9	0.1	23

Pesos

Se midieron los pesos corporales de los ratones el día 44. Los pesos de los órganos, el hígado, el riñón y el bazo también se midieron después de que los ratones se sacrificasen el día 49. Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 174

Pesos (g) de ratones CD1					
	Química	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	-	39	0.6	1.9	0.1
ISIS 588842	Desoxi, MOE y (S)-cEt	38	0.5	2.1	0.1
ISIS 588843	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0.6	2.4	0.2
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	42	0.6	2.2	0.2
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	42	0.7	2.6	0.2
ISIS 599024	3-10-4 MOE	41	0.6	4.0	0.2
ISIS 599087	5-7-5 MOE	44	0.8	2.6	0.3
ISIS 599093	5-7-5 MOE	39	0.6	2.3	0.2
ISIS 599149	4-8-5 MOE	42	0.7	2.8	0.2
ISIS 599155	4-8-5 MOE	41	0.7	2.1	0.2
ISIS 599202	5-8-5 MOE	43	0.6	2.6	0.2
ISIS 599203	5-8-5 MOE	42	0.6	2.6	0.2
ISIS 599208	5-8-5 MOE	40	0.6	2.1	0.2
ISIS 599261	3-10-5 MOE	39	0.7	3.4	0.3
ISIS 599267	3-10-5 MOE	42	0.8	2.5	0.3

(continuación)

Pesos (g) de ratones CD1					
	Química	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	-	39	0.6	1.9	0.1
ISIS 599268	3-10-5 MOE	41	0.7	2.1	0.2
ISIS 599322	6-7-6 MOE	43	0.6	2.2	0.2
ISIS 599374	5-9-5 MOE	37	0.6	2.2	0.2
ISIS 599378	5-9-5 MOE	43	0.7	2.7	0.2
ISIS 599441	6-8-6 MOE	42	0.6	2.5	0.3

15 Estudio 8 (con gapmers MOE, oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt, y gapmers (S)-cEt)

Se inyectaron a grupos de ratones CD1 macho de ocho a nueve semanas de edad por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de gapmers MOE, o 50 mg/kg de oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt o gapmers (S)-cEt. Un grupo de ratones CD1 macho se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Los ratones se sometieron a eutanasia 48 horas después de la última dosis y se recogieron los órganos y el plasma para análisis adicional.

Marcadores de química del plasma

25 Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, albúmina, creatinina y BUN usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente.

Tabla 175

Marcadores de química del plasma en plasma de ratones CD1 el día 43							
	Química	Dosis (mg/kg/semana)	ALT (UI/50)	AST (IU/L)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	-	-	37	57	2.5	0.08	26
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	57	73	2.5	0.07	24
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	74	126	2.8	0.10	26
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	83	73	2.5	0.07	23
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	106	102	2.7	0.09	27
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	66	62	2.6	0.10	24
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	48	67	2.6	0.08	23
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	65	106	2.5	0.10	25
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	78	90	2.6	0.09	25
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	94	89	2.5	0.08	23
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	38	54	2.3	0.07	25
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	63	72	2.5	0.10	27

Pesos

50 Se midieron los pesos corporales de los ratones el día 36. Los pesos de los órganos, el hígado, el riñón y el bazo también se midieron después de que los ratones se sacrificasen el día 43. Los resultados para los pesos de los órganos se expresaron como una relación con los pesos corporales y se normalizaron a la relación de control PBS.

Tabla 176

Pesos de órganos/peso corporal (BW) de ratones CD1					
	Química	Dosis (mg/kg/semana)	Riñón/BW	Hígado/PC	Bazo/BW
PBS	-	-	1.0	1.0	1.0
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	1.4	1.1	1.0
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	1.5	1.1	0.9
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	1.3	1.2	0.9
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	1.3	1.2	1.0
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	1.6	1.1	1.0
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	1.7	1.2	1.0

(continuación)

Pesos de órganos/peso corporal (BW) de ratones CD1					
	Química	Dosis (mg/kg/semana)	Riñón/BW	Hígado/PC	Bazo/BW
PBS	-	-	1.0	1.0	1.0
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	1.5	1.2	1.0
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	1.5	1.0	0.8
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	1.8	1.2	1.0
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	1.3	1.0	0.9
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	1.4	1.1	0.9

Ensayos de citoquinas

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para medir los distintos niveles de citoquinas, como IL-6, MDC, MIP1 β , IP-10, MCP1, MIP-1 α y RANTES. Los resultados se presentan en la Tabla 54.

Tabla 177

Niveles de citoquinas (pg/ml) en plasma de ratones CD1								
	Química	IL-6	MDC	MIP1 β	IP-10	MCP1	MIP-1 α	RANTES
PBS	-	70	16	23	20	17	6	2
ISIS 532770	5-10-5 MOE	101	18	146	116	101	24	6
ISIS 532800	5-10-5 MOE	78	17	83	53	105	1	3
ISIS 532809	5-10-5 MOE	66	19	60	32	55	20	4
ISIS 588540	5-10-5 MOE	51	18	126	70	75	4	3
ISIS 588544	5-10-5 MOE	157	14	94	34	102	1	3
ISIS 588548	5-10-5 MOE	164	12	90	66	84	10	4
ISIS 588550	5-10-5 MOE	58	21	222	124	157	3	5
ISIS 588553	5-10-5 MOE	62	14	183	60	103	9	4
ISIS 588555	5-10-5 MOE	70	19	172	171	178	16	9
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	59	13	61	27	63	12	4
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	48	14	56	38	85	10	3

Ensayos de hematología

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para mediciones de hematocritos (HCT), así como de las varias células sanguíneas, como WBC, RBC y plaquetas, y el contenido de hemoglobina total (Hb). Los resultados se presentan en la tabla 55.

Tabla 178

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1.						
	Química	HCT (%)	Hb (g/dl)	WBC (10 ³ / μ l)	RBC (10 ⁶ / μ l)	Plaquetas (10 ³ / μ l)
PBS	-	46	15	7	9	960
ISIS 532770	5-10-5 MOE	45	14	5	9	879
ISIS 532800	5-10-5 MOE	45	14	5	9	690
ISIS 532809	5-10-5 MOE	46	14	6	9	1005
ISIS 588540	5-10-5 MOE	49	15	6	10	790
ISIS 588544	5-10-5 MOE	36	11	7	7	899
ISIS 588548	5-10-5 MOE	46	14	6	9	883
ISIS 588550	5-10-5 MOE	42	13	8	8	721
ISIS 588553	5-10-5 MOE	45	14	6	9	719
ISIS 588555	5-10-5 MOE	43	13	8	9	838
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	15	8	10	840
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	45	14	8	9	993

Ejemplo 127: Tolerabilidad de oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB humano en ratas Sprague-Dawley

Las ratas Sprague-Dawley son un modelo multipropósito usado para evaluaciones de seguridad y eficacia. Las ratas se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS de los estudios descritos en los Ejemplos anteriores y se evaluaron los cambios en los niveles de varios marcadores de química del plasma.

5

Estudio 1 (con gapmers de 5-10-5 MOE)

Se mantuvieron ratas Sprague-Dawley macho, de siete a ocho semanas de edad, en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron ad libitum con comida para ratas normal de Purina, dieta 5001. Cada uno de los grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se inyectó por vía subcutánea una vez una semana durante 6 semanas con 100 mg/kg de gapmers 5-10-5 MOE. Un grupo de control de 6 ratas se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

15 *Función hepática*

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles en plasma de transaminasas usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles en plasma de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla siguiente expresada en UI/l. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

25

Tabla 179

Marcadores de la función hepática en ratas Sprague-Dawley.		
	ALT (UI/50)	AST (IU/l)
PBS	66	134
ISIS 588544	101	329
ISIS 588550	69	157
ISIS 588553	88	304
ISIS 588554	202	243
ISIS 588555	94	113
ISIS 588556	102	117
ISIS 588560	206	317
ISIS 588564	292	594

30

35

40 *Función renal*

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles en plasma de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y creatinina usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente, expresada en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

45

Tabla 180

Marcadores de la función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley		
	BUN	Creatinina
PBS	18	3.5
ISIS 588544	21	3.1
ISIS 588550	21	3.0
ISIS 588553	22	2.8
ISIS 588554	23	3.0
ISIS 588555	22	3.5
ISIS 588556	21	3.2
ISIS 588560	26	2.4
ISIS 588564	24	2.7

50

55

60

Pesos

Se tomaron mediciones del peso corporal el día 39. Los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón se midieron al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios

65

en el peso de los órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de estudios adicionales.

Tabla 181

Pesos (g)				
	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	422	16	1.2	3.9
ISIS 588544	353	15	1.7	2.9
ISIS 588550	321	14	2.1	3.2
ISIS 588553	313	15	2.3	3.2
ISIS 588554	265	11	1.6	2.7
ISIS 588555	345	14	1.4	3.3
ISIS 588556	328	13	1.7	3.1
ISIS 588560	270	13	2.4	3.0
ISIS 588564	253	12	2.9	3.0

20 Estudio 2 (con oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt)

Se mantuvieron ratas Sprague-Dawley macho de nueve a diez semanas de edad en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron ad libitum con comida para ratas normal de Purina, dieta 5001. Cada uno de los grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se inyectó por vía subcutánea una vez una semana durante 6 semanas con 100 mg/kg de oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt. Dos grupos de control de 3 ratas cada uno se inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

30 *Función hepática*

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles en plasma de transaminasas el día 42 usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles en plasma de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y albúmina y los resultados se presentan en la Tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 182

Marcadores de la función hepática en ratas Sprague-Dawley			
	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)
PBS	55	150	3.4
PBS	64	91	3.5
ISIS 588554	52	92	3.2
ISIS 588835	971	844	4.1
ISIS 588842	317	359	3.8
ISIS 588843	327	753	2.9
ISIS 588846	70	111	3.2
ISIS 588847	65	100	3.0
ISIS 588864	91	109	3.0
ISIS 594430	85	106	3.7

55 *Función renal*

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles en plasma de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y creatinina usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente, expresada en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

65

Tabla 183

Marcadores de la función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley		
	BUN	Creatinina
PBS	17	0.4
PBS	21	0.4
ISIS 588554	20	0.4
ISIS 588835	23	0.5
ISIS 588842	22	0.4
ISIS 588843	51	0.4
ISIS 588846	25	0.5
ISIS 588847	23	0.5
ISIS 588864	23	0.4
ISIS 594430	22	0.5

Pesos

Las mediciones del peso corporal se tomaron el día 39. Los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón se midieron al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en el peso de los órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de estudios adicionales.

Tabla 184

Pesos (g)				
	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	466	16	0.9	3.8
PBS	485	16	0.9	3.6
ISIS 588554	393	15	2.3	2.6
ISIS 588835	387	16	1.0	3.3
ISIS 588842	414	22	1.5	3.7
ISIS 588843	427	20	2.5	4.2
ISIS 588846	366	16	2.1	3.3
ISIS 588847	402	15	1.6	3.1
ISIS 588864	364	15	2.1	3.8
ISIS 594430	420	16	1.2	3.6

Estudio 3 (con gapmers MOE)

Se mantuvieron ratas Sprague-Dawley macho de nueve a diez semanas de edad en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron ad libitum con comida para ratas normal de Purina, dieta 5001. Cada uno de los grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se inyectó por vía subcutánea una vez una semana durante 6 semanas con 100 mg/kg de gapmers MOE. Un grupo de control de 6 ratas se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y los órganos y el plasma se recogieron para un análisis adicional.

Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles en plasma de transaminasas el día 43 usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles en plasma de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla siguiente expresada en UI/l. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de la función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 185

Marcadores de la función hepática en ratas Sprague-Dawley.				
	Química	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)
PBS	-	52	110	3.7
ISIS 588563	5-10-5 MOE	175	291	2.9

(continuación)

Marcadores de la función hepática en ratas Sprague-Dawley.				
	Química	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)
ISIS 599024	3-10-4 MOE	139	173	1.4
ISIS 599093	5-7-5 MOE	116	238	2.6
ISIS 599149	4-8-5 MOE	232	190	3.4
ISIS 599155	4-8-5 MOE	108	215	2.5
ISIS 599202	5-8-5 MOE	65	86	3.5
ISIS 599203	5-8-5 MOE	71	97	3.1
ISIS 599208	5-8-5 MOE	257	467	1.9
ISIS 599261	3-10-5 MOE	387	475	1.5
ISIS 599267	3-10-5 MOE	201	337	2.7

Función renal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles en plasma de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y creatinina usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente, expresada en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 186

Marcadores de la función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley			
	Química	BUN	Creatinina
PBS	-	16	0.3
ISIS 588563	5-10-5 MOE	26	0.4
ISIS 599024	3-10-4 MOE	135	1.2
ISIS 599093	5-7-5 MOE	29	0.4
ISIS 599149	4-8-5 MOE	23	0.4
ISIS 599155	4-8-5 MOE	29	0.4
ISIS 599202	5-8-5 MOE	19	0.4
ISIS 599203	5-8-5 MOE	22	0.4
ISIS 599208	5-8-5 MOE	26	0.3
ISIS 599261	3-10-5 MOE	228	1.6
ISIS 599267	3-10-5 MOE	24	0.4

Pesos

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón se midieron al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en el peso de los órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de estudios adicionales.

Tabla 187

Pesos (g)					
	Química	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	-	471	16	1.0	4.1
ISIS 588563	5-10-5 MOE	311	16	3.4	4.1
ISIS 599024	3-10-4 MOE	297	11	1.0	3.5
ISIS 599093	5-7-5 MOE	332	18	4.1	5.0
ISIS 599149	4-8-5 MOE	388	16	2.3	3.7
ISIS 599155	4-8-5 MOE	290	15	2.9	4.5
ISIS 599202	5-8-5 MOE	359	13	1.3	3.2
ISIS 599203	5-8-5 MOE	334	14	1.8	3.3
ISIS 599208	5-8-5 MOE	353	29	4.7	4.6
ISIS 599261	3-10-5 MOE	277	10	0.9	3.2
ISIS 599267	3-10-5 MOE	344	21	3.9	4.7

Estudio 4 (con gapmers MOE)

Se mantuvieron ratas Sprague-Dawley macho de nueve a diez semanas de edad en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron ad libitum con comida para ratas normal de Purina, dieta 5001. Cada uno de los grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se inyectó por vía subcutánea una vez una semana durante 6 semanas con 100 mg/kg de gapmers MOE. Un grupo de control de 6 ratas se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles en plasma de transaminasas el día 42 usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles en plasma de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla siguiente expresada en UI/l. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 188

Marcadores de la función hepática en ratas Sprague-Dawley.				
	Química	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)
PBS	-	48	77	3.9
ISIS 532800	5-10-5 MOE	72	111	3.4
ISIS 532809	5-10-5 MOE	59	89	3.8
ISIS 588540	5-10-5 MOE	146	259	3.8
ISIS 599268	3-10-5 MOE	175	206	2.7
ISIS 599322	6-7-6 MOE	523	567	3.3
ISIS 599374	5-9-5 MOE	114	176	3.0
ISIS 599378	5-9-5 MOE	124	116	3.2
ISIS 599380	5-9-5 MOE	148	210	3.4
ISIS 599441	6-8-6 MOE	51	91	2.6

Función renal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles en plasma de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y creatinina usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente, expresada en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 189

Marcadores de la función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley			
	Química	BUN	Creatinina
PBS	-	15	0.4
ISIS 532800	5-10-5 MOE	26	0.5
ISIS 532809	5-10-5 MOE	18	0.5
ISIS 588540	5-10-5 MOE	22	0.5
ISIS 599268	3-10-5 MOE	28	0.5
ISIS 599322	6-7-6 MOE	24	0.5
ISIS 599374	5-9-5 MOE	29	0.5
ISIS 599378	5-9-5 MOE	22	0.4
ISIS 599380	5-9-5 MOE	26	0.5
ISIS 599441	6-8-6 MOE	24	0.4

Pesos

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón se midieron al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron

cambios en el peso de los órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de estudios adicionales.

Tabla 190

Pesos (g)					
	Química	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	-	502	16	0.9	3.7
ISIS 532800	5-10-5 MOE	376	16	2.0	3.4
ISIS 532809	5-10-5 MOE	430	16	1.4	3.4
ISIS 588540	5-10-5 MOE	391	16	1.8	3.5
ISIS 599268	3-10-5 MOE	332	16	3.6	3.6
ISIS 599322	6-7-6 MOE	348	13	2.1	3.4
ISIS 599374	5-9-5 MOE	302	12	2.0	3.3
ISIS 599378	5-9-5 MOE	332	11	1.1	2.8
ISIS 599380	5-9-5 MOE	350	11	1.5	3.3
ISIS 599441	6-8-6 MOE	368	16	2.5	3.3

Estudio 5 (con gapmers MOE y oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt)

Se mantuvieron ratas Sprague-Dawley macho de nueve a diez semanas de edad en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron ad libitum con comida para ratas normal de Purina, dieta 5001. Cada uno de los grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con 100 mg/kg de gapmer MOE o con 50 mg/kg de oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt. Un grupo de control de 4 ratas se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles en plasma de transaminasas el día 42 usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles en plasma de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla siguiente expresada en UI/l. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 191

Marcadores de la función hepática en ratas Sprague-Dawley.				
	Química	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)
PBS	-	49	74	3.3
ISIS 532770	5-10-5 MOE	95	132	3.3
ISIS 588851	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	47	72	3.1
ISIS 588856	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	56	75	3.0
ISIS 588865	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	62	84	2.9
ISIS 588867	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	73	214	2.9
ISIS 588868	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	59	83	3.1
ISIS 588870	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	144	144	3.4

Función renal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal se midieron los niveles en plasma y orina de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y creatinina usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en las Tablas siguientes, expresados en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 192

Marcadores de la función renal (mg/dl) en el plasma de ratas Sprague-Dawley			
	Química	BUN	Creatinina
PBS	-	18	0.3
ISIS 532770	5-10-5 MOE	20	0.4

(continuación)

Marcadores de la función renal (mg/dl) en el plasma de ratas Sprague-Dawley				
	Química	BUN	Creatinina	
5	ISIS 588851	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	20	0.4
	ISIS 588856	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	22	0.4
	ISIS 588865	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	24	0.5
	ISIS 588867	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	22	0.4
10	ISIS 588868	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	19	0.4
	ISIS 588870	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	20	0.5

Tabla 193

Marcadores de la función renal (mg/dl) en la orina de ratas Sprague-Dawley				
	Química	Proteína total	Creatinina	
15	PBS	-	80	92
	ISIS 532770	5-10-5 MOE	466	69
20	ISIS 588851	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	273	64
	ISIS 588856	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	259	68
	ISIS 588865	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	277	67
	ISIS 588867	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	337	68
25	ISIS 588868	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	326	75
	ISIS 588870	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	388	82

Pesos

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón se midieron al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en el peso de los órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de estudios adicionales.

Tabla 194

Pesos (g)						
	Química	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón	
35	PBS	-	489	16	0.9	3.5
	ISIS 532770	5-10-5 MOE	372	15	1.7	3.1
40	ISIS 588851	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	285	14	1.4	3.2
	ISIS 588856	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	415	15	1.1	3.3
	ISIS 588865	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	362	14	2.0	3.3
	ISIS 588867	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	406	15	2.4	3.4
45	ISIS 588868	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	399	15	1.5	3.4
	ISIS 588870	Desoxi, MOE, y (S)-cEt	446	14	1.4	3.3

Estudio 6 (gapmers MOE, oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt y gapmers (S)-cEt)

Se mantuvieron ratas macho en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron ad libitum con comida para ratas normal de Purina, dieta 5001. Cada uno de los grupos de 4 ratas se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con 100 mg/kg de gapmers de MOE o con 50 mg/kg de oligonucleótido desoxi, MOE y (S)-cEt o gapmer (S)-cEt. Un grupo de control de 4 ratas se inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas con PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles en plasma de transaminasas el día 42 usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles en plasma de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla siguiente expresada en UI/l.

Tabla 195

Marcadores de función hepática					
	Química	Dosis (mg/kg/semana)	ALT (UI/l)	AST (IU/l)	Albúmina (g/dl)
5	PBS	-	54	73	4.3
	ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	57	4.4
	ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	176	4.3
	ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	71	4.1
10	ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	89	4.4
	ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	75	3.9
	ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	50	4.1
	ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	80	3.6
15	ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	59	3.9
	ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	97	3.8
	ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	53	3.9
	ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	198	4.4

20 *Función renal*

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles de proteína total y creatinina en la orina usando un analizador de química clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios adicionales.

Tabla 196

Proporción proteína total/creatinina en la orina de ratas			
	Química	Dosis (mg/kg/semana)	Proporción P/C
30	PBS	-	1.1
	ISIS 532770	5-10-5 MOE	8.3
35	ISIS 532800	5-10-5 MOE	6.5
	ISIS 532809	5-10-5 MOE	6.1
	ISIS 588540	5-10-5 MOE	10.1
	ISIS 588544	5-10-5 MOE	7.9
40	ISIS 588548	5-10-5 MOE	6.6
	ISIS 588550	5-10-5 MOE	7.6
	ISIS 588553	5-10-5 MOE	7.0
	ISIS 588555	5-10-5 MOE	6.2
45	ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	5.2
	ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	5.3

Pesos

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón se midieron al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla siguiente. Los resultados para los pesos de los órganos se expresaron como una relación con los pesos corporales y se normalizaron para la relación de control de PBS.

Tabla 197

Relaciones de pesos de órganos/peso corporal (BW)					
	Química	Dosis (mg/kg/semana)	Bazo/BW	Hígado/PC	Riñón/BW
55	PBS	-	1.0	1.0	1.0
	ISIS 532770	5-10-5 MOE	2.0	1.2	1.0
60	ISIS 532800	5-10-5 MOE	2.8	1.3	1.0
	ISIS 532809	5-10-5 MOE	2.2	1.1	1.0
	ISIS 588540	5-10-5 MOE	2.2	1.4	1.0
	ISIS 588544	5-10-5 MOE	2.5	1.3	1.1
	ISIS 588548	5-10-5 MOE	2.1	1.3	1.1
65	ISIS 588550	5-10-5 MOE	3.9	1.4	1.1

(continuación)

Relaciones de pesos de órganos/peso corporal (BW)						
	Química	Dosis (mg/kg/semana)	Bazo/BW	Hígado/PC	Riñón/BW	
5	ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	4.1	1.4	1.4
	ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	1.8	1.3	1.0
	ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	3.1	1.3	1.1
	ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	1.7	1.0	1.1

10

Ejemplo 128: Eficacia de oligonucleótidos antisentido contra ARNm de CFB en ratones transgénicos hCFB

Se probaron compuestos seleccionados para determinar su eficacia en ratones transgénicos CFB humanos, línea fundadora N° 6. El gen de CFB humano está localizado en el cromosoma 6: posición 31913721-31919861. Se seleccionó un Fosmid (ABC14-50933200C23) que contenía la secuencia de CFB para hacer ratones transgénicos que expresan el gen CFB humano. Se usaron las enzimas de restricción Cla I (31926612) y Age I (31926815) para generar un fragmento de 22.127 pb que contiene el gen de CFB para inyección pronuclear. El ADN se confirmó mediante análisis de enzimas de restricción usando Pvu I. El fragmento de ADN de 22.127 pb se inyectó en embriones C57BL/6NTac. Se criaron 6 fundadores positivos. El fundador N° 6 expresó el ARNm de CFB humano del hígado y se cruzó con la 3ª generación. Se usó la progenie de los ratones de 3ª generación para evaluar ASO de CFB humanos para la reducción de ARNm de CFB humano.

Tratamiento

Se inyectaron a grupos de 3 ratones cada uno por vía subcutánea dos veces a la semana durante la primera semana 50 mg/kg de oligonucleótidos ISIS, seguido de una dosificación semanal de 50 mg/kg de oligonucleótidos ISIS durante tres semanas adicionales. Un grupo de control de 4 ratones se inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 2 semanas durante la primera semana con PBS durante la primera semana durante tres semanas adicionales. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, los ratones se sacrificaron y los órganos y el plasma se recogieron para análisis adicional.

Análisis de ARN

Al final del período de dosificación, el ARN se extrajo del hígado y el riñón para el análisis de PCR en tiempo real de los niveles de ARNm de CFB. Los niveles de ARNm de CFB humano se midieron usando el conjunto de sondas de cebador humano RTS3459. Los niveles de ARNm de CFB se normalizaron a RIBOGREEN®, y también al gen de mantenimiento, Ciclofilina. Los resultados se calcularon como porcentaje de inhibición de la expresión del ARNm de CFB en comparación con el control. Todos los oligonucleótidos antisentido efectuaron la inhibición de los niveles de ARNm de CFB humano en el hígado.

40

Tabla 198

Porcentaje de reducción de los niveles de ARNm de CFB en ratones hCFB		
N° de ISIS	Normalizado a RIBOGREEN	Normalizado a ciclofilina
532770	86	87
532800	88	87
532809	69	69
588540	95	94
588544	91	91
588548	78	77
588550	89	88
588553	94	94
588555	94	94
588848	83	82
594430	78	76

Ejemplo 129 Inhibición antisentido *in vivo* de CFB murino

Se diseñaron varios oligonucleótidos antisentido que se dirigieron al ARNm de CFB murino (N° de Acceso de GENBANK NM_008198.2, incorporado en la presente como SEQ ID NO: 5). Los sitios de inicio objetivo y las secuencias de cada oligonucleótido se describen en la tabla siguiente. Los oligonucleótidos antisentido quiméricos en la tabla siguiente se diseñaron como gapmers 5-10-5 MOE. Los gapmers tienen una longitud de 20 nucleósidos, en donde el segmento de hueco central está compuesto por 10 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado en ambos

65

lados (en las direcciones 5' y 3') por alas que comprenden 5 nucleósidos cada una. Cada nucleósido en el segmento del ala 5' y cada nucleósido en el segmento del ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gapmer son enlaces fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina a lo largo de cada gapmer son 5-metilcitosinas.

5

Tabla 199

Gapmers dirigidos a CFB murinos			
Nº de ISIS	Secuencia	Sitio de inicio objetivo en la SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO
516269	GCATAAGAGGGTACCAGCTG	2593	804
516272	GTCCTTTAGCCAGGGCAGCA	2642	805
516323	TCCACCCATGTTGTGCAAGC	1568	806
516330	CCACACCATGCCACAGAGAC	1826	807
516341	TTCCGAGTCAGGCTCTTCCC	2308	808

10

15

Tratamiento

Se inyectaron a grupos de cuatro ratones C57BL/6 50 mg/kg de ISIS 516269, ISIS 516272, ISIS 516323, ISIS 516330 o ISIS 516341 administrados semanalmente durante 3 semanas. A un grupo de ratones de control se le inyectó solución salina tamponada con fosfato (PBS) administrada semanalmente durante 3 semanas.

20

Análisis del ARN de CFB

Al final del estudio, se extrajo el ARN del tejido hepático para el análisis de PCR en tiempo real de CFB, usando el conjunto de sondas de cebador RTS3430 (secuencia directa GGGCAAACAGCAATTTGTGA, designada en la presente como SEQ ID NO: 816; secuencia inversa TGGTACCCACCTCTCCTTGT, designada en la presente como SEQ ID NO: 817; secuencia de sonda CTGGATACTGTCCCAATCCCGGTATTCCX, designada en la presente como SEQ ID NO: 818). Los niveles de ARNm se normalizaron usando RIBOGREEN®. Como se muestra en la Tabla siguiente, algunos de los oligonucleótidos antisentido lograron la reducción de CFB murino sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto al control.

25

30

Tabla 200

Porcentaje de inhibición del ARNm de CFB murino en ratones C57BL/6	
Nº de ISIS	%
516269	29
516272	72
516323	77
516330	62
516341	72

35

40

Análisis de proteínas

45

Los niveles de proteína CFB se midieron en el riñón, el hígado, el plasma y en el ojo mediante transferencia Western usando anticuerpo anti-CFB de cabra (Sigma Aldrich). Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control de PBS. 'n/a' indica que no se tomaron mediciones para esa muestra. Como se muestra en la Tabla siguiente, la inhibición antisentido de CFB por los oligonucleótidos ISIS dio como resultado una reducción de la proteína de CFB en varios tejidos. Como se muestra en la Tabla siguiente, la administración sistémica de oligonucleótidos ISIS fue efectiva para reducir los niveles de CFB en el ojo.

50

Tabla 201

Porcentaje de inhibición de la proteína CFB murina en ratones C57BL/6				
Nº de ISIS	Riñón	Hígado	Plasma	Ojo
516269	20	58	n/a	70
516272	48	74	n/a	99
516323	73	85	90	93
516330	77	80	n/a	n/a
516341	80	88	68	n/a

55

60

Ejemplo 130: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB murino

65

Se inyectaron a grupos de cuatro ratones C57BL/6 cada uno 25 mg/kg, 50 mg/kg o 100 mg/kg de ISIS 516272, e ISIS 516323 administrado semanalmente durante 6 semanas. A otros dos grupos de ratones se les inyectaron 100 mg/kg de ISIS 516330 o ISIS 516341 administrados semanalmente durante 6 semanas. A dos grupos de ratones de control se les inyectó una solución salina tamponada con fosfato (PBS) administrada semanalmente durante 6 semanas.

Análisis del ARN de CFB

Se extrajo ARN de los tejidos hepáticos y renales para análisis de PCR en tiempo real de CFB, usando el conjunto de sondas de cebador RTS3430. Los niveles de ARNm se normalizaron usando RIBOGREEN®. Como se muestra en la Tabla siguiente, los oligonucleótidos antisentido lograron una reducción dependiente de la dosis de CFB murino sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto al control.

Tabla 202

Porcentaje de inhibición del ARNm de CFB murino en ratones C57BL/6			
Nº de ISIS	Dosis (mg/kg/semana)	Hígado	Riñón
516272	25	39	32
	50	73	36
	100	87	42
516323	25	36	41
	50	65	47
	100	79	71
516330	100	85	45
516341	200	89	65

Análisis de proteínas

Se midieron los niveles de proteína de CFB en el plasma mediante transferencia Western usando anticuerpo anti-CFB de cabra (Sigma Aldrich). Como se muestra en la tabla siguiente, la inhibición antisentido de CFB por los oligonucleótidos ISIS dio como resultado una reducción de la proteína CFB. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto al control de PBS. 'n/a' indica que no se realizaron mediciones para esa muestra.

Los niveles de proteína de CFB también se midieron en el ojo mediante transferencia Western. Todos los grupos de tratamiento demostraron una inhibición de CFB en un 95%, con algunas mediciones de muestras que estaban por debajo de los niveles de detección del ensayo.

Tabla 203

Porcentaje de inhibición de la proteína CFB murina en ratones C57BL/6		
Nº de ISIS	Dosis (mg/kg/semana)	Hígado
516272	25	32
	50	70
	100	83
516323	25	43
	50	80
	100	90
516330	100	n/a
516341	200	n/a

Ejemplo 131: Efecto de la inhibición antisentido de CFB en el modelo de ratón NZB/W F1

El NZB/W F1 es el modelo clásico más antiguo de lupus, donde los ratones desarrollan fenotipos severos similares a lupus comparables a los de los pacientes con lupus (Theofilopoulos, A.N. y Dixon, F.J. *Advances in Immunology*, vol. 37, pp. 269-390, 1985). Estos fenotipos similares a lupus incluyen linfadenopatía, esplenomegalia, autoanticuerpos antinucleares séricos elevados (ANA) que incluyen IgG anti-ADNbc, la mayoría de los cuales son IgG2a e IgG3, y glomerulonefritis mediada por complejos inmunitarios (GN) que se manifiesta a los 5-6 meses de edad, lo que lleva a insuficiencia renal y muerte a los 10-12 meses de edad.

Estudio 1

Se realizó un estudio para demostrar que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB mejoraría la patología renal en el modelo de ratón. Se adquirieron ratones hembra NZB/W F1 de 17 semanas de edad de Jackson Laboratories. Grupos de 16 ratones recibieron cada uno dosis de 100 µg/kg/semana de ISIS 516272 o ISIS 516323 durante 20 semanas. Otro grupo de 16 ratones recibió dosis de 100 µg/kg/semana de oligonucleótido de control ISIS 141923 durante 20 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de PBS durante 20 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los puntos finales terminales se recogieron 48 horas después de la última dosis inyectada.

10 *Análisis del ARN de CFB*

Se extrajo ARN del tejido hepático y renal para el análisis de PCR en tiempo real de CFB, usando el conjunto de sondas de cebador RTS3430. Los niveles de ARNm se normalizaron usando RIBOGREEN®. Como se muestra en la Tabla siguiente, algunos de los oligonucleótidos antisentido lograron la reducción de CFB murino sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto al control.

Tabla 204

Porcentaje de inhibición del ARNm de CFB murino en ratones NZB/W F1		
Nº de ISIS	Hígado	Riñón
516272	55	25
516323	63	43
141923	0	0

25 *Proteinuria*

Se espera una proteinuria en el 60% de los animales en este modelo de ratón. La incidencia acumulada de proteinuria grave se midió calculando la proporción de proteína total a creatinina usando un analizador clínico. Los resultados se presentan en la tabla siguiente y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB logró una reducción de la proteinuria en los ratones en comparación con los ratones tratados con control de PBS y con oligonucleótidos de control.

Tabla 205

Porcentaje de incidencia acumulada de proteinuria grave en ratones NZB/W F1	
	%
PBS	40
ISIS 516272	6
ISIS 516323	0
ISIS 141923	25

45 *Supervivencia*

La supervivencia de los ratones se controló llevando la cuenta de los ratones al comienzo del tratamiento y luego nuevamente en la semana 20. Los resultados se presentan en la tabla siguiente y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB aumentó la supervivencia en los ratones en comparación con los ratones tratados con PBS de control y con oligonucleótidos de control.

Tabla 206

Número de ratones supervivientes y % de supervivencia			
	Semana 1	Semana 20	% de supervivencia en la semana 20
PBS	10	6	60
ISIS 516272	16	15	94
ISIS 516323	16	16	100
ISIS 141923	16	12	75

60 *Deposición glomerular*

La cantidad de deposición de C3, así como la deposición de IgG, en los glomérulos de los riñones se midió mediante inmunohistoquímica con un anticuerpo anti-C3. Los resultados se presentan en la tabla siguiente y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB logró una reducción de las deposiciones de C3 e IgG en los glomérulos renales en comparación con los ratones tratados con control de PBS y

con oligonucleótidos de control.

Tabla 207

Porcentaje de inhibición de la deposición de glomérulos en ratones NZB/W F1		
Nº de ISIS	C3	IgG
516272	45	20
516323	48	2
141923	0	0

Estudio 2

Se adquirieron ratones NZB/W F1 hembra de 16 semanas de edad de Jackson Laboratories. Un grupo de 10 ratones recibió dosis de 100 µg/kg/semana de ISIS 516323 durante 12 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de 100 µg/kg/semana del oligonucleótido de control ISIS 141923 durante 12 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de PBS durante 12 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los puntos finales terminales se recogieron 48 horas después de que se inyectase la última dosis.

Análisis del ARN de CFB

Se extrajo ARN del tejido hepático y renal para el análisis de PCR en tiempo real de CFB, usando el conjunto de sondas de cebador RTS3430. Como se muestra en la tabla siguiente, el tratamiento con ISIS 516323 logró una reducción del CFB murino sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto al control.

Tabla 208

Porcentaje de inhibición del ARNm de CFB murino en ratones NZB/W F1		
Nº de ISIS	Hígado	Riñón
516323	75	46
141923	0	6

Proteinuria

Se evaluó la incidencia acumulada de proteinuria grave midiendo la proporción de proteína a creatinina total en orina, así como midiendo los niveles totales de microalbúmina. Los resultados se presentan en las tablas siguientes y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB redujo la proteinuria en los ratones en comparación con los ratones tratados con control de PBS y con oligonucleótidos de control.

Tabla 209

Proteinuria en ratones NZB/W F1 medidos como niveles de microalbumumina en orina (mg/dl)				
Nº de ISIS	Semana 0	Semana 6	Semana 8	Semana 10
516323	0	0	5.4	0.4
141923	0	8.28	8.6	5.6

Tabla 210

Proteinuria en ratones NZB/W F1 medidos como relación proteína total a creatinina				
Nº de ISIS	Semana 0	Semana 6	Semana 8	Semana 10
516323	5.5	7.8	8.6	7.2
141923	6.9	10.0	13.5	7.2

Supervivencia

Se controló la supervivencia de los ratones llevando la cuenta de los ratones al inicio del tratamiento y luego nuevamente en la semana 12. Los resultados se presentan en la tabla siguiente y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB aumentó la supervivencia en los ratones en comparación con los ratones tratados con control de PBS y con oligonucleótidos de control.

Tabla 211

Número de ratones supervivientes		
	Semana 1	Semana 12
PBS	10	9
ISIS 516323	10	10
ISIS 141923	10	9

5

10 **Ejemplo 132: Efecto de la inhibición antisentido de CFB en el modelo de ratón MRL**

15 El modelo de ratón de nefritis lúpica MRL/lpr desarrolla un fenotipo tipo LES caracterizado por linfadenopatía debido a una acumulación de células T doble negativas (CD4⁻ CD8⁻) y B220⁺. Estos ratones muestran una tasa de mortalidad acelerada. Además, los ratones tienen altas concentraciones de inmunoglobulinas circulantes, que incluyen niveles elevados de autoanticuerpos como ANA, anti-ADNmc, anti-ADNbc, anti-Sm y factores reumatoides, lo que resulta en grandes cantidades de complejos inmunes (Andrews, B. et al., J. Exp. Med. 148: 1198-1215, 1978).

15

20

Tratamiento

25 Se realizó un estudio para investigar si el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB revertiría la patología renal en el modelo de ratón. Se adquirieron ratones MRL/lpr hembra de 14 semanas de edad de Jackson Laboratories. Un grupo de 10 ratones recibió dosis de 50 µg/kg/semana de ISIS 516323 durante 7 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de 50 µg/kg/semana de oligonucleótido de control ISIS 141923 durante 7 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de PBS durante 7 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los puntos finales terminales se recogieron 48 horas después de la última dosis de inyección.

25

30

Análisis del ARN de CFB

35 Se extrajo ARN de tejido hepático para el análisis de PCR en tiempo real de CFB, usando el conjunto de sondas de cebador RTS3430. Como se muestra en la Tabla siguiente, ISIS 516323 redujo el CFB sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto al control.

35

Tabla 212

Porcentaje de inhibición del ARNm de CFB murino en ratones MRL/lpr	
Nº de ISIS	%
516323	68
141923	4

40

Patología renal

45 La patología renal se evaluó por dos métodos. Se tiñeron secciones histológicas del riñón con hematoxilina y eosina. El control de PBS demostró la presencia de precipitados tubulares crecientes multiglomerulares, que es un síntoma de glomeruloesclerosis. Por el contrario, las secciones de ratones tratados con ISIS 516323 mostraron la ausencia de precipitados tubulares crecientes con cambios fibróticos en la cápsula de bowman mínimos, expansión de células mesangiales segmentarias de moderada a grave y engrosamiento de la membrana basal glomerular.

45

50

55 También se evaluó la acumulación de C3 en el riñón mediante inmunohistoquímica con anticuerpos anti-C3. La puntuación de la intensidad de la inmunohistoquímica de C3 del riñón completa se calculó mediante el sistema de puntuación de la intensidad, que se calculó capturando 10 glomérulos por riñón y calculando la intensidad de la tinción de C3 positiva. Los resultados se presentan en la tabla siguiente y demuestran que el tratamiento con ISIS 516323 redujo la acumulación de C3 renal en comparación con los grupos de control.

55

Tabla 213

Acumulación renal de C3 en ratones MRL/lpr		
	Puntuación de intensidad de C3 del riñón completo	Cuantificación de C3 (área/área total) % de PBS medio
PBS	2.5	100
ISIS 516323	1.6	68
ISIS 141923	2.2	99

60

65

Niveles de C3 en plasma

La reducción de CFB inhibe la activación de la vía alternativa del complemento, evitando el consumo de C3 y llevando a una elevación aparente de los niveles de C3 en plasma. Los niveles de C3 en plasma de la hemorragia terminal se midieron mediante un analizador clínico. Los resultados se presentan en la tabla siguiente y demuestran que el tratamiento con ISIS 516323 aumentó los niveles de C3 ($p < 0,001$) en el plasma en comparación con los grupos de control.

Tabla 214

Niveles de C3 en plasma (mg/dl) en ratones MRL/lpr	
Nº de ISIS	C3
516323	28
141923	16

Los resultados indican que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB revierte la patología renal en el modelo de ratón de lupus.

Ejemplo 133: Efecto de la inhibición antisentido de CFB en el modelo de ratón CFH Het

El modelo de ratón heterocigótico de CFH (CFH Het, CFH^{+/-}) expresa una proteína del Factor H mutante en combinación con la proteína de ratón de longitud completa (Pickering, M.C. et al., J. Exp. Med. 2007. 204: 1249-56). La histología renal permanece normal en estos ratones hasta los seis meses de edad.

Estudio 1

Grupos de 8 ratones CFH^{+/-} de 6 semanas de edad recibieron cada uno dosis de 75 mg/kg/semana de ISIS 516323 o ISIS 516341 durante 6 semanas. Otro grupo de 8 ratones recibió dosis de 75 mg/kg/semana de oligonucleótido de control ISIS 141923 durante 6 semanas. Otro grupo de 8 ratones recibió dosis de PBS durante 6 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los puntos finales terminales se recogieron 48 horas después de la última dosis de inyección.

Análisis del ARN de CFB

Se extrajo ARN del tejido hepático y renal para el análisis de PCR en tiempo real de CFB, usando el conjunto de sondas de cebador RTS3430. Como se muestra en la Tabla siguiente, los oligonucleótidos antisentido redujeron el CFB sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto al control.

Tabla 215

Porcentaje de inhibición del ARNm de CFB murino en ratones CFH ^{+/-}		
Nº de ISIS	Hígado	Riñón
516323	80	38
516341	90	44
141923	0	17

Niveles de C3 en plasma

La reducción de CFB inhibe la activación de la vía alternativa del complemento, evitando el consumo de C3 y llevando a una elevación aparente de los niveles de C3 en plasma. Los niveles de C3 en plasma de la colección de plasma terminal se midieron mediante un analizador clínico. Los resultados se presentan en la tabla siguiente y demuestran que el tratamiento con ISIS 516323 aumentó el C3 a niveles normales en el plasma.

Tabla 216

Niveles de C3 en plasma (mg/dl) en ratones CFH ^{+/-}	
Nº de ISIS	C3
516323	15
516341	17
141923	8

Estudio 2

Grupos de 5 ratones CFH^{+/-} cada uno recibieron dosis de 12,5 mg/kg/semana, 25 mg/kg/semana, 50 mg/kg/semana, 75 mg/kg/semana o 100 mg/kg/semana de ISIS 516323 o ISIS 516341 durante 6 semanas. Otro grupo de 5 ratones recibió dosis de 75 µg/kg/semana de oligonucleótido de control ISIS 141923 durante 6 semanas. Otro grupo de 5 ratones recibió dosis de PBS durante 6 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los puntos finales terminales se recogieron 48 horas después de la última dosis de inyección.

Análisis del ARN de CFB

Se extrajo ARN del tejido hepático y renal para el análisis de PCR en tiempo real de CFB, usando el conjunto de sondas de cebador RTS3430. Como se muestra en la Tabla siguiente, los oligonucleótidos antisentido redujeron el CFB sobre el control de PBS de una manera dependiente de la dosis. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, con respecto al control.

Tabla 217

Porcentaje de inhibición del ARNm de CFB murino en el hígado de ratones CFH ^{+/-}		
Nº de ISIS	Dosis (mg/kg/semana)	%
516323	12.5	34
	25	51
	50	72
	75	79
	100	92
516341	12.5	38
	25	57
	50	89
	75	92
	100	90
141923	75	13

Niveles de C3 en plasma

La reducción de CFB inhibe la activación de la vía alternativa del complemento, evitando el consumo de C3 y llevando a una elevación aparente de los niveles de C3 en plasma. Los niveles de C3 en plasma de la colección de plasma terminal se midieron mediante un analizador clínico. Los resultados se presentan en la tabla siguiente y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos ISIS dirigidos a CFB aumentó los niveles de C3 en el plasma.

Tabla 218

Niveles de C3 en plasma (mg/dl) en ratones CFH ^{+/-}		
	Dosis (mg/kg/semana)	C3
PBS	-	10.1
516323	12.5	11.4
	25	15.5
	50	17.0
	75	18.3
	100	18.8
516341	12.5	12.1
	25	16.3
	50	18.6
	75	22.1
	100	19.1
141923	75	8.9

Ejemplo 134: Efecto de los oligonucleótidos antisentido ISIS dirigidos a CFB humano en monos cynomolgus

Se trataron monos Cynomolgus con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de los estudios descritos en los Ejemplos anteriores. Se evaluaron la eficacia y tolerabilidad del oligonucleótido antisentido, así como su perfil farmacocinético en el hígado y el riñón.

En el momento en que se realizó este estudio, la secuencia genómica del mono cynomolgus no estaba

disponible en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI); por lo tanto, la reactividad cruzada con la secuencia del gen del mono cynomolgus no pudo ser confirmada. En su lugar, se usaron las secuencias de los oligonucleótidos antisentido ISIS usados en los monos cynomolgus con una secuencia de monos rhesus para homología. Los oligonucleótidos antisentido humanos analizados a continuación tienen reactividad cruzada (con 0 o 1 malapareamientos) con la secuencia genómica de rhesus (N° de Acceso de GENBANK NW_001116486.1 truncado a partir de los nucleótidos 536000 a 545000, designada en la presente como SEQ ID NO: 3). Los sitios de inicio y parada de cada oligonucleótido dirigidos a la SEQ ID NO: 3 se presentan en la Tabla siguiente. "Sitio de inicio" indica el nucleótido más 5' al que se dirige el gapmer en la secuencia de genes del mono rhesus. Los "malapareamientos" indican el número de nucleobases en el oligonucleótido humano que no coinciden con la secuencia genómica de rhesus.

Tabla 219

Oligonucleótidos antisentido complementarios a la secuencia genómica de CFB rhesus (SEQ ID NO: 3)				
N° de ISIS	Sitio de inicio objetivo	Malapareamientos	Química	SEQ ID NO
532770	6788	0	5-10-5 MOE	198
532800	7500	0	5-10-5 MOE	228
532809	7614	0	5-10-5 MOE	237
588540	7627	1	5-10-5 MOE	440
588544	7631	1	5-10-5 MOE	444
588548	7635	1	5-10-5 MOE	448
588550	7637	1	5-10-5 MOE	450
588553	7640	1	5-10-5 MOE	453
588555	7643	0	5-10-5 MOE	455
588848	7639	1	Desoxi, MOE y cEt	598
594430	6790	0	3-10-3 cEt	549

Tratamiento

Antes del estudio, los monos se mantuvieron en cuarentena durante por lo menos un período de 30 días, durante los cuales los animales se observaron diariamente para su salud general. Los monos tenían 2-4 años y pesaban entre 2 y 4 kg. Once grupos de 4-6 monos cynomolgus macho asignados al azar fueron inyectados cada uno por vía subcutánea con oligonucleótido ISIS o PBS en cuatro sitios en la espalda en una rotación en sentido de las agujas del reloj (es decir, izquierda, superior, derecha e inferior), un sitio por dosis. Los monos recibieron cuatro dosis de carga de PBS o 40 mg/kg de ISIS 532800, ISIS 532809, ISIS 588540, ISIS 588544, ISIS 588548, ISIS 588550, ISIS 588553, ISIS 588555, ISIS 588848, o ISIS 594430 durante la primera semana (días 1, 3, 5 y 7), y posteriormente se administró una dosis por semana durante 12 semanas (días 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 y 84) con PBS o 40 mg/kg de oligonucleótido ISIS.

Reducción del objetivo hepático

Análisis del ARN

En el día 86, se recogieron muestras de hígado y riñón por duplicado (aproximadamente 250 mg cada una) para el análisis de ARNm de CFB. Las muestras se congelaron al instante en nitrógeno líquido en necropsia en el plazo de aproximadamente 10 minutos después del sacrificio.

Se extrajo ARN del hígado y el riñón para el análisis de PCR en tiempo real de la medición de la expresión del ARNm de CFB. Los resultados se presentan como cambio porcentual de ARNm, con respecto al control de PBS, normalizado con RIBOGREEN®. Los niveles de ARN también se normalizaron con el gen doméstico, Ciclofilina A. Los niveles de ARN se midieron con los conjuntos de sondas de cebador RTS3459, descritos anteriormente, o RTS4445_MGB (secuencia directa CGAAGAAGCTCAGTGAAATCAA, designada en la presente como SEQ ID NO: 819; secuencia inversa TGCCTGGAGGCCTCTT, designada en la presente como SEQ ID NO: 820; secuencia de sonda AGACCACAAGTTGAAGTC, designada en la presente como SEQ ID NO: 815).

Como se muestra en las Tablas siguientes, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido ISIS dio como resultado una reducción del ARNm de CFB en comparación con el control de PBS. El análisis de los niveles de ARNm de CFB reveló que varios de los oligonucleótidos ISIS redujeron los niveles de CFB en el hígado y/o riñón. Aquí '0' indica que los niveles de expresión no se inhibieron. '*' indica que el oligonucleótido se probó en un estudio separado con condiciones similares.

Tabla 220

Porcentaje de inhibición del ARNm de CFB en el hígado de mono cynomolgus con respecto al control de PBS				
N° de ISIS	RTS3459/Ciclofilina A	RTS3459/RIBOGREEN	RTS445_MGB/ciclofilina A	RTS445_MGB/RIBOGREEN
532770*	12	37	24	45
532800	54	45	56	46
588540	31	27	28	24
588548	68	67	68	67
588550	53	39	51	37
588553	74	59	74	59
588555	73	71	71	69
588848	9	0	6	0
594430	24	26	23	25

Tabla 221

Porcentaje de inhibición del ARNm de CFB en el riñón de mono cynomolgus con respecto al control de PBS				
N° de ISIS	RTS3459/Ciclofilina A	RTS3459/RIBOGREEN	RTS445_MGB/ciclofilina A	RTS445_MGB/RIBOGREEN
532770*	34	56	2	31
532800	36	30	43	37
588540	70	71	67	69
588548	83	84	82	83
588550	81	77	78	74
588553	86	84	86	85
588555	32	34	48	50
588848	89	91	87	90
594430	33	37	19	23

Análisis de proteínas

Se recogió aproximadamente 1 ml de sangre de todos los animales disponibles en el día 85 y se colocó en tubos que contenían la sal de potasio de EDTA. Las muestras de sangre se colocaron en hielo húmedo o Kryorack inmediatamente, y se centrifugaron (3000 rpm durante 10 minutos a 4° C) para obtener plasma (aproximadamente 0,4 ml) en el plazo de 60 minutos desde la recogida. Los niveles en plasma de CFB se midieron en el plasma mediante inmunodifusión radial (RID), usando un anticuerpo policlonal anti-Factor B. Los resultados se presentan en la tabla siguiente. El ISIS 532770 se probó en un estudio separado y los niveles de proteína plasmática se midieron el día 91 o 92 en ese grupo.

El análisis de CFB en plasma reveló que varios oligonucleótidos ISIS redujeron los niveles de proteína de manera sostenida. El ISIS 532770, que se probó en un estudio separado, redujo los niveles de proteína de CFB en el día 91/92 en un 50% en comparación con los valores de referencia. La reducción en los niveles de proteína de CFB en plasma se correlaciona bien con la reducción del nivel de ARNm de CFB hepático en los grupos correspondientes de animales.

Tabla 222

Niveles de proteína en plasma (% valores de referencia) en el mono cynomolgus					
	Día 1	Día 30	Día 58	Día 72	Día 86
PBS	113	115	95	83	86
ISIS 532800	117	68	52	39	34
ISIS 532809	104	121	100	80	71
ISIS 588540	108	72	61	40	38
ISIS 588544	118	74	53	33	29
ISIS 588548	110	41	28	20	16
ISIS 588550	104	64	54	38	37
ISIS 588553	97	42	35	18	16
ISIS 588555	107	35	37	18	18
ISIS 588848	116	95	92	69	71
ISIS 594430	104	64	59	45	46

Estudios de tolerabilidad*Mediciones de peso corporal*

5 Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la salud general de los animales, se midieron los pesos corporales y de órganos y se presentan en la Tabla siguiente. ** indica que el oligonucleótido se probó en un estudio separado con condiciones similares y es la media de las mediciones de monos macho y hembra. Los resultados indican que el efecto del tratamiento con oligonucleótidos antisentido sobre el peso corporal y de los

10

Tabla 223

Pesos corporales finales (g) en mono cynomolgus							
	Día 1	Día 14	Día 28	Día 42	Día 56	Día 70	Día 84
PBS	2887	2953	3028	3094	3125	3143	3193
ISIS 532770*	2963	2947	2966	3050	3097	3138	3160
ISIS 532800	2886	2976	3072	3149	3220	3269	3265
ISIS 532809	2755	2836	2927	2983	3019	3071	3098
ISIS 588540	2779	2834	2907	2934	2981	3034	3057
ISIS 588544	2837	2896	3009	3064	3132	3163	3199
ISIS 588548	2694	2816	2882	2990	3073	3149	3161
ISIS 588550	2855	2988	3062	3188	3219	3282	3323
ISIS 588553	3033	3156	3256	3335	3379	3372	3442
ISIS 588555	2757	2863	2965	3022	3075	3088	3158
ISIS 588848	2850	3018	3032	3187	3230	3212	3291
ISIS 594430	2884	2963	2953	3149	3187	3204	3256

15

20

25

30

Tabla 224

Pesos de órganos finales (g) en mono cynomolgus				
	Bazo	Corazón	Riñón	Hígado
PBS	2.8	11.6	11.9	55.8
ISIS 532770*	5.0	11.3	20.6	77.9
ISIS 532800	6.2	11.9	18.6	94.4
ISIS 588540	4.0	11.4	13.5	67.1
ISIS 588548	4.1	11.7	17.3	72.0
ISIS 588550	5.8	10.9	18.5	81.8
ISIS 588553	5.0	12.7	17.2	85.9
ISIS 588555	4.7	11.8	15.9	88.3
ISIS 588848	5.0	12.7	14.4	75.7
ISIS 594430	3.9	11.9	14.8	69.9

35

40

45

Función hepática

50 Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se recogieron muestras de sangre de todos los grupos de estudio. Las muestras de sangre se tomaron de las venas cefálica, safena o femoral, 48 horas después de la dosificación. Los monos se mantuvieron en ayunas durante la noche antes de la extracción de sangre. Se recogió sangre (1,5 ml) en tubos sin anticoagulante para la separación del suero. Los tubos se mantuvieron a temperatura ambiente durante un mínimo de 90 minutos y luego se centrifugaron (aproximadamente

55 3.000 rpm durante 10 minutos) para obtener suero. Los niveles de varios marcadores de la función hepática se midieron usando un analizador químico Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Japón).

60 Se midieron los niveles en plasma de ALT y AST y los resultados se presentan en la tabla siguiente, expresada en IU/l. La bilirrubina, un marcador de la función hepática, se midió de manera similar y se presenta en la tabla siguiente expresada en mg/dl. ** indica que el oligonucleótido se probó en un estudio separado con condiciones similares y es la media de las mediciones de monos macho y hembra. Los resultados indican que la mayoría de los oligonucleótidos antisentido no tuvieron efecto sobre la función hepática fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido.

65

Tabla 225

Niveles de marcadores de química del hígado en plasma de mono cynomolgus en el día 86			
	ALT (UI/50)	AST (IU/l)	Bilirrubina (mg/dl)
5	PBS	71	0.3
	ISIS 532770*	59	0.1
	ISIS 532800	65	0.1
	ISIS 532809	35	0.1
10	ISIS 588540	70	0.2
	ISIS 588544	55	0.2
	ISIS 588548	61	0.2
	ISIS 588550	94	0.2
15	ISIS 588553	44	0.2
	ISIS 588555	63	0.2
	ISIS 588848	69	0.2
	ISIS 594430	86	0.2

20 *Función renal*

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se recogieron muestras de sangre de todos los grupos de estudio. Las muestras de sangre se tomaron de las venas cefálica, safena o femoral, 48 horas después de la dosificación. Los monos se mantuvieron en ayunas durante la noche antes de la extracción de sangre. La sangre se recogió en tubos sin anticoagulante para la separación del suero. Los tubos se mantuvieron a temperatura ambiente durante un mínimo de 90 minutos y luego se centrifugaron (aproximadamente 3.000 rpm durante 10 minutos) para obtener suero. Los niveles de BUN y creatinina se midieron usando un analizador químico Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Japón). Los resultados se presentan en la tabla siguiente, expresada en mg/dl. ^{*)} indica que el oligonucleótido se probó en un estudio separado con condiciones similares y es la media de las mediciones de monos macho y hembra.

Para el análisis de orina, se recogió orina fresca de todos los animales por la mañana usando una bandeja de jaula limpia en hielo húmedo. La comida se retiró durante la noche el día anterior a la recogida de la orina, pero se suministró agua. Se analizaron las muestras de orina (aproximadamente 1 ml) para determinar la relación de proteína a creatinina (P/C) usando un analizador de química automatizado Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Japón). 'n.d.' indica que el nivel de proteína en la orina estaba por debajo del límite de detección del analizador.

Los datos químicos del plasma y la orina indican que la mayoría de los oligonucleótidos ISIS no tuvieron ningún efecto sobre la función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido.

Tabla 226

Niveles de marcadores de química renal (mg/dl) en plasma de mono cynomolgus en el día 86			
	BUN	Creatinina	Proteína total
45	PBS	28	8.0
	ISIS 532770*	20	6.9
	ISIS 532800	25	7.5
	ISIS 532809	23	7.4
50	ISIS 588540	30	7.5
	ISIS 588544	26	7.4
	ISIS 588548	25	7.6
	ISIS 588550	24	7.2
	ISIS 588553	25	7.2
55	ISIS 588555	25	7.6
	ISIS 588848	24	7.5
	ISIS 594430	25	7.2

Tabla 227

Relación proteína /creatinina total en orina de mono cynomolgus		
	Día 44	Día 86
60	PBS	n.d.
65	ISIS 532800	n.d.

(continuación)

Relación proteína /creatinina total en orina de mono cynomolgus		
	Día 44	Día 86
ISIS 532809	0.01	n.d.
ISIS 588540	0.03	n.d.
ISIS 588544	0.01	0.09
ISIS 588548	0.01	0.01
ISIS 588550	0.04	0.01
ISIS 588553	0.05	n.d.
ISIS 588555	0.03	0.03
ISIS 588848	0.09	n.d.
ISIS 594430	0.03	n.d.

Hematología

Para evaluar cualquier efecto de los oligonucleótidos ISIS en monos cynomolgus sobre los parámetros hematológicos, se recogieron muestras de sangre de aproximadamente 0,5 ml de sangre de cada uno de los animales de estudio disponibles en tubos que contenían K₂-EDTA. Las muestras se analizaron para el recuento de glóbulos rojos (RBC), el recuento de glóbulos blancos (WBC), los recuentos de glóbulos blancos individuales, como el onocitos, neutrófilos, linfocitos, así como el recuento de plaquetas, el contenido de hemoglobina y hematocrito, usando un analizador de hematología ADVIA120 (Bayer, USA). Los datos se presentan en las tablas siguientes. *¹ indica que el oligonucleótido se probó en un estudio separado con condiciones similares y es la media de las mediciones de monos macho y hembra.

Los datos indican que los oligonucleótidos no provocaron cambios en los parámetros hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido a esta dosis.

Tabla 228

Recuento de células sanguíneas en monos cynomolgus						
	RBC (x 10 ⁶ /μl)	Plaquetas (x 10 ³ /μl)	WBC (x 10 ³ /μl)	Neutrófilos (% WBC)	Linfocitos (% total)	Monocitos (% total)
PBS	5.8	347	9.4	42.7	53.1	3.0
ISIS 532770*	5.4	386	10.8	22.3	71.7	3.3
ISIS 532800	5.6	360	13.1	29.5	61.1	6.5
ISIS 532809	5.2	400	11.5	56.6	38.2	2.5
ISIS 588540	5.5	367	11.7	50.9	42.7	2.1
ISIS 588544	5.2	373	14.3	56.6	37.6	4.3
ISIS 588548	5.1	373	9.7	40.4	54.3	3.9
ISIS 588550	6.1	343	9.9	32.1	61.7	4.6
ISIS 588553	5.2	424	9.3	41.7	53.2	3.6
ISIS 588555	5.1	411	9.6	45.1	49.7	3.5
ISIS 588848	5.7	370	10.0	39.8	55.8	3.1
ISIS 594430	5.7	477	10.6	47.3	47.8	3.6

Tabla 229

Parámetros hematológicos en monos cynomolgus.		
	Hemoglobina (g/dl)	HCT (%)
PBS	14.1	46.6
ISIS 532770*	12.4	40.9
ISIS 532800	12.3	40.5
ISIS 532809	12.2	40.4
ISIS 588540	12.5	41.5
ISIS 588544	11.9	38.1
ISIS 588548	12.3	39.6
ISIS 588550	13.4	45.0
ISIS 588553	12.6	39.8
ISIS 588555	11.6	38.1
ISIS 588848	13.2	42.7
ISIS 594430	13.4	43.1

20 *Medición de la concentración de oligonucleótidos.*

Se midió la concentración del oligonucleótido de longitud completa en los tejidos del riñón y el hígado. El método usado es una modificación de los métodos publicados anteriormente (Leeds et al., 1996; Geary et al., 1999) que consisten en una extracción con fenol-cloroformo (líquido-líquido) seguida de una extracción en fase sólida. Las concentraciones de la muestra de tejido se calcularon usando curvas de calibración, con un límite inferior de cuantificación (LLOQ) de aproximadamente 1,14 µg/g. Los resultados se presentan en la tabla siguiente, expresada como µg/g de tejido hepático o renal.

Tabla 230

Distribución de oligonucleótidos antisentido.			
	Riñón (µg/g)	Hígado (µg/g)	Proporción riñón/hígado
ISIS 532800	3881	1633	2.4
ISIS 588540	3074	1410	2.2
ISIS 588548	3703	1233	3.0
ISIS 588550	4242	860	4.9
ISIS 588553	3096	736	4.2
ISIS 588555	4147	1860	2.2
ISIS 588848	2235	738	3.0
ISIS 594430	1548	752	2.1

45 **Ejemplo 135: Estudio de eficacia de 6 semanas oligonucleótidos antisentido no conjugados y conjugados con 5'-THA-GalNac3 dirigidos a CFB humano en ratones transgénicos**

Se probaron dos oligonucleótidos antisentido que tienen la misma secuencia de nucleobases: oligonucleótido antisentido no conjugado ISIS 588540 y oligonucleótido antisentido conjugado 5'-THA-GalNac3 ISIS 696844 en ratones transgénicos con CFB humano (ratones hCFB-Tg).

Se administró por vía subcutánea a los ratones ISIS 696844 a dosis de 0,1, 1,25, 0,5, 2,0, 6,0 o 12,0 mg/kg/semana o ISIS 588540 a dosis de 2, 6, 12, 25 o 50 mg/kg/semana durante 6 semanas. A un grupo control de ratones se administró por vía subcutánea PBS durante 6 semanas. Los ratones se sacrificaron 48 horas después de la última dosis. Los niveles de ARNm hepático se analizaron por qRT-PCR.

55 Estudio 1

Los resultados se presentan en la Tabla siguiente y demuestran que el oligonucleótido antisentido conjugado 5'-THA-GalNac3 dirigido a CFB es más potente que el oligonucleótido antisentido no conjugado con la misma secuencia.

65

Tabla 231

Eficacia de oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB		
	ED ₅₀ (mg/kg)	ED ₇₅ (mg/kg)
ISIS 588540	4.52	9.26
ISIS 696844	0.52	1.12

5

10 Estudio 2

Los niveles de ARNm hepáticos se midieron con dos conjuntos de sondas de cebador diferentes dirigidos a diferentes regiones del ARNm y se normalizaron a RIBOGREEN® (RGB) o Ciclofilina. Los conjuntos de sondas de cebador fueron RTS3459, descrita anteriormente, y RTS3460 (secuencia directa CGAAGCAGCTCAATGAAATCAA, designada en la presente como SEQ ID NO: 813; secuencia inversa TGCCTGGAGGGCCTTCTT, designada en la presente como SEQ ID NO: 814; secuencia de sonda AGACCACAAGTTGAAGTC, designada en la presente como SEQ ID NO: 815). Los resultados se presentan en la Tabla siguiente y demuestran que el oligonucleótido antisentido conjugado con 5'-THA-GalNAc3 dirigido a CFB es más potente que el oligonucleótido antisentido no conjugado con la misma secuencia, independientemente del conjunto de sondas de cebador usado.

15

20

Tabla 231

Eficacia de oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB								
	ED ₅₀ RTS3459 (RGB)	ED ₅₀ RTS3460 (RGB)	ED ₅₀ RTS3459 (Ciclofilina)	ED ₅₀ RTS3460 (Ciclofilina)	ED ₇₅ RTS3459 (RGB)	ED ₇₅ RTS3460 (RGB)	ED ₇₅ RTS3459 (Ciclofilina)	ED ₇₅ RTS3460 (Ciclofilina)
ISIS 588540	4.5	4.1	5.2	5.4	9.3	10.0	10.0	9.3
ISIS 696844	0.5	0.5	0.6	0.5	1.1	1.3	1.2	0.9

25

30

LISTADO DE SECUENCIAS

35

<110> Isis Pharmaceuticals, Inc.

<120> COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA MODULAR LA EXPRESION DEL FACTOR B DEL COMPLEMENTO

40

<130> BIOL0251WO

<150> 62/076,273

<151> 2014-11-06

45

<150> 61/987,471

<151> 2014-05-01

<160> 854

<170> PatentIn versión 3.5

50

<210> 1

<211> 2646

<212> ADN

<213> Homo sapiens<400> 1

55

60

65

ES 2 745 825 T3

	gacttctgca gtttctgttt ccttgactgg cagctcagcg gggccctccc gcttggatgt	60
	tccgggaaag tgatgtgggt aggacaggcg gggcgagccg caggtgccag aacacagatt	120
5	gtataaaagg ctgggggctg gtggggagca ggggaagggg atgtgaccag gtctaggtct	180
	ggagtttcag cttggacact gagccaagca gacaagcaaa gcaagccagg acacaccatc	240
10	ctgccccagg cccagcttct ctctgcctt ccaacgccat ggggagcaat ctgagcccc	300
	aactctgcct gatgcccttt atcttgggcc tcttgtctgg aggtgtgacc accactccat	360
15	ggtctttggc ccggccccag ggatcctgct ctctggaggg ggtagagatc aaaggcggct	420
	ccttccgact tctccaagag ggccaggcac tggagtacgt gtgtccttct ggcttctacc	480
	cgtaccctgt gcagacacgt acctgcagat ctacggggtc ctggagcacc ctgaagactc	540
20	aagaccaaaa gactgtcagg aaggcagagt gcagagcaat ccactgtcca agaccacacg	600
	acttcgagaa cggggaatac tggccccggt ctccctacta caatgtgagt gatgagatct	660
25	ctttccactg ctatgacggt tacactctcc ggggctctgc caatcgcacc tgccaagtga	720
	atggccgatg gagtgggcag acagcgatct gtgacaacgg agcgggggtac tgctccaacc	780
	cgggcatccc cattggcaca aggaaggtgg gcagccagta ccgccttgaa gacagcgtca	840
30	cctaccactg cagccggggg cttaccctgc gtggctccca gcggcgaacg tgtcaggaag	900
	gtggctcttg gagcgggacg gagccttctt gccaaagactc cttcatgtac gacaccctc	960
35	aagaggtggc cgaagctttc ctgtcttccc tgacagagac catagaagga gtcgatgctg	1020
	aggatgggca cggcccaggg gaacaacaga agcgggaagat cgtcctggac ccttcaggct	1080
40	ccatgaacat ctacctggtg ctagatggat cagacagcat tggggcccagc aacttcacag	1140

45

50

55

60

65

ES 2 745 825 T3

	gagccaaaaa	gtgtctagtc	aacttaattg	agaaggtggc	aagttatggt	gtgaagccaa	1200
	gatatggtct	agtgacatat	gccacatacc	ccaaaatttg	ggtcaaagtg	tctgaagcag	1260
5	acagcagtaa	tgcagactgg	gtcacgaagc	agctcaatga	aatcaattat	gaagaccaca	1320
	agttgaagtc	agggactaac	accaagaagg	ccctccaggc	agtgtacagc	atgatgagct	1380
10	ggccagatga	cgtccctcct	gaaggctgga	accgcacccg	ccatgtcatc	atcctcatga	1440
	ctgatggatt	gcacaacatg	ggcggggacc	caattactgt	cattgatgag	atccgggact	1500
	tgctatacat	tggcaaggat	cgcaaaaacc	caaggaggga	ttatctggat	gtctatgtgt	1560
15	ttggggtcgg	gcctttggtg	aaccaagtga	acatcaatgc	tttggttcc	aagaaagaca	1620
	atgagcaaca	tgtgttcaaa	gtcaaggata	tggaaaacct	ggaagatggt	ttctaccaa	1680
20	tgatcgatga	aagccagtct	ctgagtctct	gtggcatggt	ttgggaacac	aggaagggtg	1740
	ccgattacca	caagcaacca	tggcaggcca	agatctcagt	cattcgccct	tcaaagggac	1800
25	acgagagctg	tatgggggct	gtggtgtctg	agtactttgt	gctgacagca	gcacattggt	1860
	tcactgtgga	tgacaaggaa	cactcaatca	aggtcagcgt	aggaggggag	aagcgggacc	1920
	tggagataga	agtagtccta	tttcacccca	actacaacat	taatgggaaa	aaagaagcag	1980
30	gaattcctga	atthttatgac	tatgacgttg	ccctgatcaa	gctcaagaat	aagctgaaat	2040
	atggccagac	tatcaggccc	atthtctctcc	cctgcaccga	gggaacaact	cgagctttga	2100
35	ggcttcctcc	aactaccact	tgccagcaac	aaaaggaaga	gctgctccct	gcacaggata	2160
	tcaaagctct	gtttgtgtct	gaggaggaga	aaaagctgac	tcggaaggag	gtctacatca	2220
40	agaatgggga	taagaaaggc	agctgtgaga	gagatgctca	atatgccccca	ggctatgaca	2280
	aagtcaagga	catctcagag	gtggtcacc	ctcggttcct	ttgtactgga	ggagtgagtc	2340
	cctatgctga	cccccaatact	tgcagaggtg	attctggcgg	ccccttgata	gttcacaaga	2400
45	gaagtcgtht	cattcaagtt	ggtgtaatca	gctggggagt	agtggatgtc	tgcaaaaacc	2460
	agaagcggca	aaagcaggta	cctgctcaag	cccagactt	tcacatcaac	ctctttcaag	2520
50	tgctgccctg	gctgaaggag	aaactccaag	atgaggattt	gggttttcta	taaggggtht	2580
	cctgctggac	aggggcgtgg	gattgaatta	aaacagctgc	gacaacaaaa	aaaaaaaaaa	2640
55	aaaaaa						2646
	<210> 2						
	<211> 9001						
	<212> ADN						
	<213> Homo sapiens						
60	<400> 2						
	ggaggtgagg	gtctcaggth	ggggatgctg	ggatccccct	gtgacagctc	ccagaatgth	60
65	tctcttctt	ctccaggtct	ggctgctth	tctctctgac	gcgggtcacc	cctcctccca	120

ES 2 745 825 T3

	agcctcacia	acctgctagg	tgtccctggg	tctgcttatt	ctttttttgt	tgttattgag	180
	atggagtctt	gctctgtctc	ccaggctgga	gtgcagtggc	acgacctcag	ctcactgcaa	240
5	cttctgcctc	ctgggttcaa	gcgattctcc	tacttcagcc	tcccgagtag	ctgagattac	300
	aggtgcccac	caccacacca	gctaattttt	gtatttttag	tagagacggg	atttcgccat	360
10	gttggccagg	atggtcttga	actcctgacc	tcaagtgatc	tgcctgcctc	aacctcccaa	420
	agtgtgaga	ttacagggct	gagccactgc	acccacccgg	gtctgcttat	tctacccttc	480
	tctctggttc	caccctgct	gcagtggaca	agctgtgccg	aggttgtctc	ccaagaaaa	540
15	accatgttcc	ccaacttgac	agatgtcagg	gaggtggtga	cagaccagtt	cctatgcagt	600
	gggacccagg	aggatgagag	tccctgcaag	ggtgagtccc	tcacatgcc	tggattccca	660
20	aggggaaggc	cacctgtgtc	tctgtggcca	gcatgcatgc	cagaacacca	gtccactgcc	720
	ctagatgaca	ctgtctcctg	tcaccctttg	ctggcaggag	aatctggggg	agcagttttc	780
	cttgagcggg	gattcagggt	ttttcagggt	agaaggtaga	agcttgcagg	accaggggt	840
25	tacaggatct	cagccttggt	ggggggatga	gggaggcctt	tgagggatct	agggaggttg	900
	gggcttacag	ttggggctgt	ggcagcctcc	cagccagttc	tctccttttc	tccagtgagg	960
30	tctggtgagc	tggggctctt	acaaccctg	ccttggctct	gctgacaaaa	actcccgcaa	1020
	aagggccctt	cgtagcaagg	tcccgccgcc	acgagacttt	cacatcaatc	tcttccgcat	1080
	gcagccctgg	ctgagggcagc	acctggggga	tgtcctgaat	tttttaccct	tctagccatg	1140
35	gccactgagc	cctctgctgc	cctgccagaa	tctgccgcc	ctccatcttc	tacctctgaa	1200
	tggccaccct	tagaccctgt	gatccatcct	ctctcctagc	tgagtaaatc	cgggtctcta	1260
40	ggatgccaga	ggcagcgcac	acaagctggg	aaatcctcag	ggctcctacc	agcaggactg	1320
	cctcgctgcc	ccacctcccg	ctccttggcc	tgtccccaga	ttccttccct	ggttgacttg	1380
	actcatgctt	gtttcacttt	cacatggaat	ttcccagtta	tgaaattaat	aaaaatcaat	1440
45	ggtttccaca	tctctcagtg	cctctatctg	gaggccaggt	agggctggcc	ttgggggagg	1500
	gggaggccag	aatgactcca	agagctacag	gaaggcaggt	cagagacccc	actggacaaa	1560
50	cagtggctgg	actctgcacc	ataacacaca	atcaacaggg	gagtgagctg	gatccttatt	1620
	tctggtccct	aagtgggtgg	tttgggctta	ctggggagga	gctaaggccg	gagaggaggt	1680
	actgaagggg	agagtcctgg	acctttggca	gcaaaggggt	ggacttctgc	agtttctggt	1740
55	tccttgactg	gcagctcagc	ggggccctcc	cgcttggatg	ttccgggaaa	gtgatgtggg	1800
	taggacaggc	ggggcgagcc	gcaggtgccca	gaacacagat	tgtataaaaag	gctgggggct	1860
60	ggtggggagc	aggggaaggg	aatgtgacca	ggtctaggtc	tggagtttca	gcttggacac	1920
	tgagccaagc	agacaagcaa	agcaagccag	gacacaccat	cctgccccag	gcccagcttc	1980
65	tctcctgcct	tccaacgcca	tggggagcaa	tctcagcccc	caactctgcc	tgatgccctt	2040

ES 2 745 825 T3

	tatcttgggc ctcttgtctg gaggtaagcg agggtaacct tcccttctctg ctgtctccag	2100
	catccctcct tggccttttg gggccaggct tcatcagcct ttctcttcag gtgtgaccac	2160
5	cactccatgg tcttttgccc ggccccaggg atcctgctct ctggaggggg tagagatcaa	2220
	aggcggctcc ttccgacttc tccaagaggg ccaggcactg gagtacgtgt gtccttctgg	2280
10	cttctaccog taccctgtgc agacacgtac ctgcagatct acggggctct ggagcaccct	2340
	gaagactcaa gaccaaaaga ctgtcaggaa ggcagagtgc agaggtttga gggcaatgag	2400
	tgtgggcagt ggcctaaggc agaaacaggg caggcggcag caaggtcagg actaggatga	2460
15	gactaggcag ggtgacaagg tgggctgacc gggagtagga gcagttttag ggtggcaggc	2520
	ggaaaggggg caagaaaaag cggagttaac ccttactaag catttaccct gggcttccag	2580
20	gcagccctgg aagtcaagag aacctcaga aatggggagg gagaagcagt ggaaatccat	2640
	atgggttag gagtaggtaa gatgctgctt ctgcgggact gggaatgcmc tgtttctcag	2700
25	tgacatggtc tccgagacca ggagggatac acctaaggca gcctttccct ctgatgact	2760
	tctacttgtc cccccttctc aaagcaatcc actgtccaag accacacgac ttcgagaacg	2820
	gggaatactg gccccggtct ccctactaca atgtgagtga tgagatctct ttccactgct	2880
30	atgacggtta cactctccgg ggctctgcca atcgcacctg ccaagtgaat ggccgatgga	2940
	gtgggcagac agcgatctgt gacaacggag gtgagaagca tcccctcccc ctacattgct	3000
35	gtctccctga cggcgcccag cccgaggagt gggcactcgg ctccggacac tgtaactctt	3060
	gctctctacc ttgctcacgg ggcctcaggc ttcagtgctt acctogatgt ctcatacctc	3120
40	tgcagcgggg tactgctcca acccgggcat cccattggc acaaggaagg tgggcagcca	3180
	gtaccgcctt gaagacagcg tcacctacca ctgcagccgg gggcttacc tgcgtggctc	3240
	ccagcggcga acgtgtcagg aagggtggctc ttggagcggg acggagcctt cctgccaaagg	3300
45	tgaccttga cctgtacccc caggtcagat cctggtcttc catcctactg tcttctctcc	3360
	ccacctcaac cctgctcttt cctcactttg tttaaacctc cctgtacaac tatctcactt	3420
50	ctgagccttt tataccctgg aaacccatga tccccgtct ctttggtcac tgtatccctg	3480
	acactcccag acatttgacc tcatttctga ctctcccaga ctccctcatg tacgacaccc	3540
	ctcaagaggt ggccgaagct ttcctgtctt ccctgacaga gaccatagaa ggagtcgatg	3600
55	ctgaggatgg gcacggccca ggtttgaaga cagagaaggg aggcagggca gggaaactggg	3660
	ggaaaatgga gaagggacag aactgttaat gctggagcct gagccactct cctggcaccc	3720
60	aggggaacaa cagaagcggga agatcgtcct ggacccttca ggctccatga acatctacct	3780
	ggtgctagat ggatcagaca gcattggggc cagcaacttc acaggagcca aaaagtgtct	3840
65	agtcaactta attgagaagg tggaaatctc ctatccctga actcggggga atggaatctc	3900

ES 2 745 825 T3

	gctgatcttc caggactagc tcctgatca ttccagcccc tctgaacaac agggccccag	3960
	gaaaatctcc aggtcctatt ctgtcctcct tcccttttac ttgaagcagt ttcttgactg	4020
5	gtaattcctc catgaacctc agcccttgag cctcttactg agagcctccc tgtcccagca	4080
	aagtcgctga aatctcccaa tcacagtatt ctattttcaa tgccatggcg ccttgttctc	4140
10	ctcaccacaca ggtggcaagt tatgggtgta agccaagata tggcttagtg acatatgcca	4200
	cataccccaa aatttgggtc aaagtgtctg aagcagacag cagtaatgca gactgggtca	4260
	cgaagcagct caatgaaatc aattatgaag gtcagagggt agggaatggt gggagggtca	4320
15	ctttggggtc aggaggttca ggggtggagg ggtcatgaga ctaccttgag ggcgacaggg	4380
	aggaccactt tgtagtcaaa agttgaacag caggatcggt gggcaatgga ggttagtggg	4440
20	aacctgttg gggctggaag ggcactttg tgggtcaaagg gaagtccgtg taatgatgat	4500
	taacttaaaa agttgaaaga tgtgggattt cagttgcaga ttggtctctg gggtaaaaag	4560
	atggcttgga agaccaggtg aggtgatggt ctcttcctc tccacagacc acaagttgaa	4620
25	gtcagggact aacaccaaga aggccctcca ggcagtgtac agcatgatga gctggccaga	4680
	tgacgtccct cctgaaggct ggaaccgcac ccgccatgtc atcatcctca tgactgatgg	4740
30	tcagaagggga cctctctcct gtcccagcct cccacacttc tcagaccagc atgtggccct	4800
	taagtccact tgtaacacta taccatggt tggggccctg aatgtgactc atagctggct	4860
	gttcatctct cctgtgacct ttcataagga attcttcta agccctgtga tcaactatct	4920
35	ctaacccttc ctcaacttgc tcaccctgcc atgtgtatcc ctgccttag ccagtttctc	4980
	ttccttatct cctaccctca tggctctgtc tcttctgcag gattgcacaa catgggctggg	5040
40	gaccaatta ctgtcattga tgagatccgg gacttgctat acattggcaa ggatcgcaaa	5100
	aacccaaggg aggattatct ggggtagtaa cctgcctagg acccagcacc ccaactcctc	5160
	agggcttgga ccctcatcct tcctttttat ccctcagatg tctatgtgtt tggggtcggg	5220
45	cctttggtga accaagtga catcaatgct ttggcttcca agaaagacaa tgagcaacat	5280
	gtgttcaaag tcaaggatat ggaaaacctg gaagatgttt tctaccaa at gatcggtagg	5340
50	gagatacaag ggaataaaga acacaactct cctcaggttc ccctgaagta attcattctt	5400
	cctctacacc tgaagctcta gttgcctgga aagccttctt cattcctcct tctctacctc	5460
	agtgtcacta ttcttgtttc ctggcactgt tcaacttaacc ttagaatcac agagctctga	5520
55	gcacttcaga gatctttcta tagtcctaca tttgacacgt ggaaacagaa gccaaaggag	5580
	gtcaagggac agcaagttag caacaaggtt gggcttgaaa acagccaggc ctctgacagc	5640
60	ttgatcccaa gttctttccc ttttcagtcc accatagcag ttttctccta acacgaggaa	5700
	acaaataccc gtggtctttc cttttctcct tttgggcctt tgctcccat agactcctac	5760
65	ccaaaaggct gctgccattt gggaatgaag tgttccgagt tttcagcaca ttctccttct	5820

ES 2 745 825 T3

ctgccagatg aaagccagtc tctgagtctc tgtggcatgg tttgggaaca caggaagggg 5880
 accgattacc acaagcaacc atggcaggcc aagatctcag tcattgtaag cacagaatcc 5940
 5 cagtagtggg gacttggggg aggtgaggtc aaggtgaaat gggagttagg gaaggaaaaa 6000
 atggccataa gagatggtgg tttgtgaaag ttgagctttc cctctctact gttgtgtccc 6060
 10 cagcgcctt caaagggaca cgagagctgt atgggggctg tgggtgtctga gtactttgtg 6120
 ctgacagcag cacattgttt cactgtggat gacaaggaac actcaatcaa ggtcagcgtg 6180
 ggtaaggatg caactgaagg tcctgggctg cacctatgct ctccaggcaa cacctcccac 6240
 15 tttctacaga tcctacactc cacccatcct caatgcagcc ccattccttg caccacagac 6300
 cagtcagga tgggggaaga cgtgaagtta ggaatgacac ggggccagag gcaggaagct 6360
 20 gccacaaaag aggtggtacc tactctccta cttcaggagg ggagaagcgg gacctggaga 6420
 tagaagtagt cctatttcac cccaactaca acattaatgg gaaaaaagaa gcaggaattc 6480
 ctgaatttta tgactatgac gttgccctga tcaagctcaa gaataagctg aaatatggcc 6540
 25 agactatcag gtgagagcgt ccagatccct gaggaaaggc tgggaaaggc tggaggactg 6600
 gggtgaggag caggcctggt ttgctgttct ccttgtcctt tataggccca tttgtctccc 6660
 30 ctgcaccgag ggaacaactc gagctttgag gcttcctcca actaccactt gccagcaaca 6720
 aagtaagaca tacttggtcaa gaggataagg atgagatccc aagagacaag tggggcatga 6780
 35 gagggaggtg caataggaag agatgatgcc tggccagaa cctagctcta gaagggctta 6840
 ggggacatct actgagtgac aaaggcaatg gggagatgac agtgggtggga gcagctgaag 6900
 tgacgcagtc tattcgtcca gaggaagagc tgctccctgc acaggatata aaagctctgt 6960
 40 ttgtgtctga ggaggagaaa aagctgactc ggaaggagggt ctacatcaag aatggggata 7020
 aggtgagaaa cgggcatcct aaggaggcac tctaggcccc aatccttct aagccacttc 7080
 45 tgttcattac ttctccatgc ttcccacctc ccctacagaa aggcagctgt gagagagatg 7140
 ctcaatatgc cccaggctat gacaaagtca aggacatctc agaggtggtc acccctcggt 7200
 tcctttgtac tggaggagtg agtccctatg ctgaccccaa tacttgcaga ggtgagagaa 7260
 50 tgctctttgg ttgtgctaca agtgcccaag gcccaacagt ccttttctct acagcttctc 7320
 ctctccttgc aggtgattct ggcggcccct tgatagttca caagagaagt cgtttcattc 7380
 55 aagtgagtcc tccttttct atctggggag atgccaaagt gtcagcatgg gcccacaaagc 7440
 aggaaagctc aatgcatgtg gctagtaatt cgaggtaggc agagcctgcc tcaccttagg 7500
 60 accgcatgtc ttgcctgctg gtgtcaagaa cgaggctgag ctgggtccct agtctgattc 7560
 ctttaggtca gctaagacac aagcaggaac agccatgctt ccaggattag gaattctact 7620
 65 gaatgatcca tggcacccca ctgcctctgc aggttgggtg aatcagctgg ggagttagtg 7680

ES 2 745 825 T3

	atgtctgcaa aaaccagaag cggcaaaagc aggtacctgc tcacgcccga gactttcaca	7740
	tcaacctctt tcaagtgctg ccctggctga aggagaaact ccaagatgag gatttgggtt	7800
5	ttctataagg ggtttcctgc tggacagggg cgtgggattg aattaaaca gctgcgacaa	7860
	cacctgtggt ccagatcctt ttggggcaag ggagtgggga acaggcactg gccatgttgt	7920
10	tacactgaga tcaaacctga cagccgtttt taaaggttta accccaatcc caagtgctga	7980
	aaaaccagag gctgagggag atgtgtaagc ttccacctca gtgttttact gagaccagca	8040
	ttggggcata tgaggcacia ggaatccagc tctgttccct agaagccatc cacaaggttt	8100
15	tcctttaga cgatcact gtagacaatc tgggtcctct tgtcccgtg gcaaccctta	8160
	gggctgttct ggacagctag ggagggagga gaggaacagt taaggtctaa aggagatcat	8220
20	agaacagacc ctgaggctga ctctgacca cctcactcct ggccactggc ccctggaagc	8280
	ccagtttcca cgctgccctc tgggtggccag gatggcctgt ctctcttagc tcctttgtgc	8340
25	caaccatgg ccaagaaaag tataagtgga cattttgatg aatgttttgt tcttagaaaa	8400
	atcccaaatg tcattgttga gacacgtgaa tgatattaac cactactta cagtcagtat	8460
	gtcagaagct aaaaactaga aaacctctgt agcccttttt tgacatgctg gtcaattcta	8520
30	gttcctttct tttgcctgaa gggccactgt agctgagccc ttctttctgc tcactccttt	8580
	cccaggaaaa tctactttca gggaaaatgg attattcaca ctaagaaatg ctactagctc	8640
35	caccagaact cattcagggg ttagctttgg ccctcaccat tctctctcaa gcctctagct	8700
	gtttcttccc ctctctcttt cctccctcca ccagacatgt tactctcttc accccatcca	8760
40	atggttccat cccaccacc cttgagctac agagaatctc tctcaccac tccatcctg	8820
	tgatctctgt gcctcaacac tgctggctac tccctctttc tcaaagtgtg tgccttttg	8880
	cttcagtggc ccaggcccct ggggtgctgc tcccagccct ccgaccctc ctctgtctc	8940
45	ctttgctaac gttaggctca acgtagcct aacatgtcag gacagctggg gacatgtggg	9000
	g	9001
50	<210> 3 <211> 9001 <212> ADN <213> Macaca mulatta	
55	<400> 3	
	gatggaatct tgctctgtct cccacactgg agtgcagtgg cacgatcttg gctcactgcg	60
	acttctgcct ccagattta agtgattctc ctacctcggc ctcccaagta gctgggatta	120
60	taggtgcttg ccaccacatg cagctaattt ttgtattttt agtagagaca ggattccgcc	180
	atgttggcca ggatggtctt gaactcctga cctcaagtga ttgcccacc tcagcctccc	240
65	aaactgctgg gattacaggc gtgagccatt gcaccagtc aggtctgctt attcttccct	300

ES 2 745 825 T3

	tctctctggt	tccacccta	cggcagtgga	caagctgtgc	cgaggtcgtc	tcccaagaaa	360
	aaaccatggt	ccccaacttg	acagatgtca	gggaggtggt	gacagaccag	tttctatgca	420
5	gtgggaccca	ggaggatgag	agtcctgtca	agggtgagtc	cctcacatg	cctggattcc	480
	caaaggggaa	ggccacctgt	gtctctgtgg	ccagggtgca	tgccagaaca	ccagtccact	540
10	gccctgtatg	acgctgtctc	ctgtcacctt	ttgctggcag	gagaatctgg	gggagcagtt	600
	ttccttgagc	ggagattcag	gttttttcag	gtgagaaggt	ggaagcttgc	aggaccagg	660
	ggttacagga	tgtcagcctt	gttgggggga	tgagggaggc	ctttgagggg	tctagggagg	720
15	ttggggctta	cagctggagc	tgtggcagcc	tcccagccag	ttctctcctt	ttctccaggt	780
	gggtctggtg	agctggggtc	tttacaacct	ctgccttggc	tctgctgaca	aaaactcccg	840
20	caaaagggcc	cctcgtagca	aggtcccgcc	gccacgagac	tttcacatca	atctcttccg	900
	catgcagccc	tggctgaggc	agcacctggg	ggatgtcctg	aatTTTTTtac	ccctttagtc	960
	atggccactg	agccctctgc	tgtcctgtta	gaatccgccc	cccctccatc	ttctacctct	1020
25	gaatgcccac	ccttagactc	tgtgacctat	gctgtctcct	agttgagtaa	atctgggtct	1080
	ctaggatgcc	aggggcagcg	cacacaagct	gggaaatcct	cagggctcct	accagcggga	1140
30	ctgcctcgct	gccccacctc	ccgctccttg	gcctgtcccc	aaattcctcc	cctggttgac	1200
	ttgactcatg	ctcatttcac	tttcatatgg	aatttcccag	ttatgaaatt	aataaaaatc	1260
	agtggtttcc	acatctgtct	gtgactctat	ctggaggcca	ggtagggctg	gcctgggggg	1320
35	aaggggaggc	cagaatgact	ccaagagcca	caggaaggca	ggtcagagac	cccactggac	1380
	aaacagtggc	tggactctgt	accataacac	acaagcaaca	ggggagtgag	ctggatcctt	1440
40	atctctggtc	cctaagtggg	tggctctggc	ttgctgggga	ggagctgagg	ccagaaggag	1500
	gtactgaagg	ggagagtcct	ggaccttggg	cagcaaaggg	tgggacttct	gcagtttctg	1560
	cttcttgac	tggcagctca	gcggggccct	cccgcttggg	tgttccggga	aagtgatgag	1620
45	ggtaggacag	gccccgcaag	ctgcaggtgc	cagaacacag	attgcataaa	aggccgggag	1680
	ctggtggggg	gcaggggaag	ggaatgtgac	caggtctagg	tctggagttt	cagcttggac	1740
50	actgagctaa	gtagacaagc	aaaacaagcc	aggacacgcc	atcctgcccc	aggcccagct	1800
	tctctcctgc	cttctaacgc	catggggagc	agtctcagcc	cccagctcta	cctgatgccc	1860
	ttcatcttgg	gcctcttata	tggaggtgag	tgagggtaac	cttcccttcc	tgtgtcccc	1920
55	agcatccctc	cttggccttt	tggggccagg	cttcatcagc	ctttctcttc	agggtgtgacc	1980
	accactccat	tgtcttcggc	ccagcctcaa	ggatcctgct	ctctggaggg	ggtagagatc	2040
60	aaaggtggct	ccttccgact	tctccaagag	ggccaggcac	tggaatacgt	gtgtccttct	2100
	ggcttctacc	cgtaccctgt	gcagacacgt	acctgcagat	ccacggggtc	ctggagcacc	2160
65	ctgcagactc	aagatcgaaa	aactgtcaag	aaggcagagt	gcagaggttt	gagggcaatg	2220

ES 2 745 825 T3

	agtgtgggca	gtggcctaag	ggagaaacag	ggcagatggc	agcaaggcca	ggactaggat	2280
	gagactaggc	agggtgacaa	ggtgggctga	ccaggagtag	gagcagtttt	agggtttag	2340
5	aggaaagga	agggaaaaa	aaaggggagt	taaccttag	taagcattta	ccctgggctt	2400
	ccacgcagcc	ctggaagtca	agagaacact	cagcaatggg	gagggaggag	cagcggaaac	2460
10	ccctatgggt	tgaaggtag	gtaagatgca	gcttctgcag	gactgggaat	gctctgtttc	2520
	tcagtgacct	ggtctctgag	accaggaggg	aaacacctaa	ggcagccttt	ccctcttaat	2580
	gacttctact	tctcccctct	tctcaaagca	atccgctgtc	cacgaccaca	ggacttcgag	2640
15	aacggggaat	accggccccg	gtctccctac	tacaatgtga	gtgatgagat	ctctttccac	2700
	tgctatgacg	gttacactct	ccggggctct	gccaatcgca	cctgccaaat	gaatggccgg	2760
20	tggagtgggc	agacagcgat	ctgtgacaac	ggaggtgaga	agcatcctct	ccccccacat	2820
	tgctgtctcc	ctgacagcgc	ctagcctgag	gagtgggcat	ttgcccccg	acactgtaac	2880
	tcttgctctc	taccttgccc	tgggggctc	aggcttcagc	gcttacctcc	atgtctcatg	2940
25	cctctgcagc	gggtactgc	tccaaccag	gcatccccat	tggcacaagg	aaggtgggca	3000
	gccggtaccg	ccttgaagac	agcgtcacct	accactgcag	ccgggggctt	accctgctg	3060
30	gctcccagcg	gcgaacatgt	caggaagggtg	gctcttgag	cgggacggag	ccttcctgcc	3120
	aaggtgacct	ttgacctgta	ccccaggctc	agatcctgat	cttgcatcct	actgtcttct	3180
35	ctccccacct	caaccctgct	ctttcctcac	ttcttttaa	ccttctcta	gaactgtctc	3240
	acttctgagc	cttttctacc	ctggaaacct	acaatcccct	gtctctttgg	tcactgtgtc	3300
	cctgacactc	ccagacattt	gacctcattt	ctgactctcc	cagactcctt	catgtacgac	3360
40	accctcaag	aggtggccga	agctttcctg	tcttccctga	cggagaccat	agaaggagtc	3420
	gatgccgagg	atgggcacag	cccaggtttg	aaggcagaga	ggggaggcaa	ggcagggaac	3480
45	tgggggaaaa	tggagaagg	acaagataat	cgttcatgct	ggagcctgag	tcactctcct	3540
	ggcaccagc	ggaacaacag	aagcggagga	tcatacctaga	cccttcaggc	tccatgaaca	3600
50	tctacctggt	gctagatgga	tcagacagca	ttggggccgg	caacttcaca	ggagccaaaa	3660
	agtgtctagt	caacttaatt	gagaagggtg	agtcctccta	tcctgaact	tgggggaatg	3720
	gaatcttct	gatcttccag	gactagctcc	ctgatcattc	cagcccctct	gaaccgcagg	3780
55	gccccaggaa	agtctccagg	tcctattctg	tcctccttcc	cttgtaactg	attcctccat	3840
	gaacctgtgc	ttgagcctct	tcctaagagc	ctccctgtcc	cagcaacggt	gctgaagtct	3900
60	cccaatcaca	gtattctact	ttcaatgcca	tggcgccttg	ttctcctcac	ccacaggtgg	3960
	caagttatgg	tgtgaagcca	agatatgctc	tagtgacata	tgccacatac	cccagaattt	4020
65	gggtcaaagt	gtctgaccaa	gagagcagca	atgcagactg	ggtcacgaag	aagctcagtg	4080

ES 2 745 825 T3

	aatcaatta tgaaggtcag aggttaggga atggtgggag gttcactttg gggtcaggag	4140
	gttcaggagt gttgtgtgga gggggtcatg agactacctt gagggcaaca gggggaccac	4200
5	tttgtagtca aaggttgaac agcaggatca ttgggcaatg gaggttagtg ggaacctgct	4260
	gagggctgga agggccactt tgtggtcaaa ggaagtcca tatgatgatt aacttaaaaa	4320
10	gttgaagatg tgagatttca gttgcagatt ggtctctggg gttaaaagat ggcttggaag	4380
	accaggtgag gcgatgctct cttccctccc cacagaccac aagttgaagt cagggactaa	4440
	caccaagagg gccctccagg cagtgtacag catgatgagt tggccagagg acatccctcc	4500
15	tgaaggctgg aaccgcaccc gccatgtcat catcctcatg accgatggtc agaagggacc	4560
	tctctcctgt cccagcctcc ccacctctc agaccagcat gtggccctta agtccacttg	4620
20	taaacctata cccatgggtg gggccctgaa tgtgactcgt aactggctgt tcatctctcc	4680
	tgtgaccctt cataaagaat tattcctaaa gccctgtgat caactacctc taacccttcc	4740
	tcaacttact caccctgcca cgtgtatcac tgcctctagc caatttatct tatctcctac	4800
25	cctcatggtc cegtctcttc tgcaggattg cacaacatgg gcggggaccc aattactgtc	4860
	attgatgaga tccgggactt gttatacatc ggcaaggatc gtaaaaaccc gagggaggat	4920
30	tatctgggtg agtaacctgc ctaggaccca gcaccctact tcctcagggc ttggaccgtc	4980
	atccttcctt tttctccctc agatgtctat gtgtttgggg ttggacctt ggtggaccaa	5040
	gtgaacatca atgctttggc ttccaagaaa gacaatgagc aacatgtgtt caaagtcaag	5100
35	gatatggaaa acctggaaga cgttttcttc caaatgattg gtaggcagac acaagggaat	5160
	caagaacgca actctcctca gcttcccctg aaataattca ttcttctct acccctgaag	5220
40	ctctagttgc ctggaaagcc ttcttcattc ctcttctct acctcagtat cactattctt	5280
	gtttcctggc actgtttgct tcttaacctt agaatcacag agctctaggc acttcagaga	5340
	tctttctatt gtccctacatt tgacacatgt ggaaacaaag gccaaaggag gtcaaggggc	5400
45	agcaagctag caacagggct gggcttgaaa acagccaggc ctctgatagc ttgatcccaa	5460
	gttctttccc ttttactcc accacagcag ttttctccta acacaggaa acaaatacct	5520
50	gtggcctttc cctttctcct tttgggcctc tgccccccac agacttctac ccaaaggctg	5580
	ctgccgtttg ggaatgaagt gttccaagt ttcagcacat tctccttctc tgccagatga	5640
	aagccagtct ctgagtctct gtggcatggt ttgggaacac agcaagggtta ccgattacca	5700
55	caagcaacca tggcaggcca agatctcagt cactgtaagc acagaatccc agtagtgagg	5760
	acttggggga ggtgaggtca aggtgaaatg ggagtagggg aaggggcaaaa tggccgtaag	5820
60	agatgggtgt ttgtgaaagt tgagttttcc ctttctactg ttctgttccc agcgccttc	5880
	gaagggacat gagagctgta tgggggctgt ggtgtctgag tactttgtgc tgacagcagc	5940
65	acattgtttt actgtggacg acaaggaaca ctcaatcaag gtcagcgtgg gtaaggatgc	6000

ES 2 745 825 T3

aactgaaggt cccgggctgc acctacgccc tccaggcaac acctcccact ttctacagat 6060
 cccacactcc actcatctgc aatgcagccc catcccttgc accccagacc agtcagggat 6120
 5 ggggaagact tgaagttagg aatgacatgg ggccagagggc aagaagctgc ccacaaagag 6180
 gtggtaccta ttctcctact tcaagggaag aagcgggacc tggagataga aaaagtccta 6240
 10 tttcaccccg actacaacat tagcgagaaa aaagaagcag gaattcctga attttatgac 6300
 tatgacgttg ccctgatcaa gctcaagaat aagttgaatt atgaccogac tatcaggtga 6360
 gagcatccag atccctgagg aaaggctggg aaaggctgga ggactggggg gaggagcagg 6420
 15 cctagtttgc tgttctttct ccatccttta taggcccatt tgtctcccct gcaccgaggg 6480
 aacaactcga gctttgaggc ttcctccaac taccacttgc cagcaacaga gtaagacata 6540
 20 ctagggggga ggataaggat gagatcccga gacaagtgag gcatgagagg gagatgcaat 6600
 aggaagagac gatgcctggc ccagaaccta gcaactaggaa gggcttaggg gacatctgct 6660
 25 gagtgacaaa gtcaataggg agatgacagt ggtgggagca gctgaagtga tgcagtctat 6720
 ttgtccagag gaagagctgc tccctgcaca ggatatcaaa gctctgtttg tgtctgagga 6780
 ggagaagaag ctgactcggg aggaggtcta catcaagaat ggggataagg tgagaaatgg 6840
 30 gcatcctaag gaggcactct aggccctaata ccttcctaag ccacctctgt tcattacctt 6900
 tctccatgct tcccacctcc cctacagaaa ggcagctgtg agagagatgc tcaatatgcc 6960
 35 ccaggctatg acaaaagtcaa ggacatctcg gaggtggtca cccctcgggt cctttgtact 7020
 ggaggagtga gtccctatgc tgaccccaat acttgacagag gtgagagAAC gctctctggt 7080
 40 tgtgctccaa gtgcccagag gccaaagagtc cttttcccta cagcttctcc tctccttgca 7140
 ggtgattctg gcggcccctt gatagttcac aagagaagtc gtttcattca agtgagtcct 7200
 ccctttccta tctggggaga tgccaagtgg tcagcatggg ccccaaagca ggaaagcaca 7260
 45 atgcatgtgg ctagtaattc gaggtgggca gacacctgct cacttttagga ctgcatgtct 7320
 ggcctgtgtg tgtcaagaat gaggtgagc tgggtcccta gcctgattcc tttaggtcag 7380
 50 ctaagacaca atcaggaaca gtcatgcttc caggattagg aattctatga atgatccatg 7440
 gcacccact gcctctgcag gttggtgtca tcagctgggg agtagtggat gtctgcaaaa 7500
 accagaagcg gcaaaaagcag gtacctgctc acgcccgaga ctttcacgtc aacctcttc 7560
 55 aagtgctgcc ctggctgaag gagaaactcc aagatgagga tttgggtttt ctctaagggg 7620
 tttcctgctg gacaggggag cgggattgaa ttaaaacagc tgcgacaaca cttgtgttcc 7680
 60 agatcctttt ggggcaaggg agtggggaac gggcactggc catgttggtta cactgagatc 7740
 aaacctgaca cccattttta aaggcttaac cccaatccca agtgctgaaa aaccagagggc 7800
 65 tgaggagat atgtaagctt ccacctcagt gttttactga gaccagcatt ggggcatttg 7860

ES 2 745 825 T3

	aggcacaagg aatccagctc tgttccctag aagccatcca caaggttttc cttgtagacg	7920
	tcatcactgt agacaatctg ggtcctcttg tcccgggtggc aacccttagg gctgttctgg	7980
5	acagctaggg agggaggaga ggaacagtta aggtctaaag gagatcatag atcagaccct	8040
	gaggctgact cctgaccacc tcagtccctgg ctgctggccc ctggaaaccc agtttccacg	8100
10	ctgccctctg gtggccagga tggcctgtct tccttagctc ctttgtgcca acccatggcc	8160
	aaggagagtg taagtggaca ttttgatgaa tgttttgttc ttagaaaaat cccaaatgtc	8220
	attgttgaga tatatgaatg atattaaccc actacttata gtcagtatgt cagaagctaa	8280
15	aaactagaaa acctctgtag ccctttattg acatgctggc caactctagt tcctttcctt	8340
	tgcctgaaag gccactggtg ctctgagtc tctcttctgc tcaactcctt cccaggaaaa	8400
20	tctactttca ggtaaaggg ttactcatac taaggaatgc tactagctcc accagaactc	8460
	atccagcatg tagctttggc cctcaccatt ctctctcaag cctctagctg tttcttcccc	8520
25	ttcctctttt cctccctcca ccagacatgt tactctcttc accccatcca aagattccat	8580
	ccccaccacc cttgacctag agagaatctc tcccaccac ttctcatcct gtgatctctg	8640
	tacctgaca ctgctggcta ctccctctt ctcaaagcat gtgtcctttc gcttcagtgg	8700
30	cccaggcccc tctgggtgctg ctcccagccc tctgaccctt cctcctgtct cctttgctaa	8760
	cgttaggctc aacgttagcc taacgtgtca ggagagctgg agacacgtgg ggcgtaaggt	8820
35	ggacagtcct gtttcctaac atagtccttg agtattcctc aagtctagtc ctgggtcgtt	8880
	ttttttctcc gaaatcagtc tccctcatga tccggggagcc accctgtgat gcagatgact	8940
40	taatctatgt tttcattcct tacctcacac ctgagttcca gaccctaata ttaaataact	9000
	t	9001
45	<210> 4 <211> 4086 <212> ADN <213> Macaca mulatta	
	<400> 4	
50	atagatatat tagcatcagg gagacagggc aaaggttcca cccttcagct cagtccccag	60
	tccctgctta ttatttccct aacagaagac catccccctt gccactccct gggttttctt	120
55	ctctggcagc aatgaagcag ctgctgagcc agctctgggtt ttcgggaagt cagatgacct	180
	tttccctccc gcggctctct gcctctcgtt gtccctaggg aggacaccat ggaccactg	240
	atggttcttt tttgcctgct gttcctgtac ccagggtccgg cagactcggc tacctcctgc	300
60	cctcagaacg tgaatatctc tgggtggacc ttcaccctca gccatggctg ggcccctggg	360
	agccttctca tctactcctg tccccagggc ctgtaccat ccccagcgtc acggctgtgc	420
65	aagagcagcg gacagtggca gacccaaga gccaccgggt ctctgactaa ggcggtctgc	480

ES 2 745 825 T3

	aaacctggcc	actgccccaa	ccccggcatt	tcgctgggcg	cggtgcggac	aggtccccgc	540
	tttggatcatg	gggacaaggt	ccgctatcgc	tgctcctcga	atcttgtgct	cacgggggtct	600
5	gcgagcggg	agtgccaggg	caacggggtc	tggagtggaa	cggagcccat	ctgccgccag	660
	ccctactctt	atgacttccc	tgaggacgtg	gcccctgccc	tgggcacctc	cttctcccac	720
10	atgcttgggg	ccaccaatcc	caccagag	acaaggatc	atgaaaatgg	aactgggact	780
	aacacctatg	cagccctaaa	cagtgtctat	ctcatgatga	acaatcaaat	gcaactcctt	840
	ggcatgaaaa	cgatggcctg	gcaggaaatc	cgacatgcca	tcaccttct	gacagatgga	900
15	aagtccaata	tgggtggctc	tcccaaaaca	gctgttgacc	aatcagaga	gatcttgaat	960
	atcaaccaga	agaggaatga	ctatctggac	atctatgcca	tcgggggtgg	caagctggat	1020
20	gtggactgga	gagaactgaa	tgagctgggg	tccaagaagg	atggcgagag	gcatgccttc	1080
	attctgcagg	acacaaaggc	tctgcaccag	gtctttgaac	atatgctgga	tgtctccaag	1140
	ctcacagaca	ccatctgctg	ggtggggaac	atgtcagcaa	acgcctctga	ccaagagagg	1200
25	acaccctggc	atgtcactat	taagcccaag	agccaagaga	cctgccgggg	agccctcatc	1260
	tccgaccaat	gggtcctgac	agcggctcac	tgcttccgcg	atggcaacga	ccactcccta	1320
30	tggaggggtca	atgtgggaga	ccccaaatcc	cagtggggca	aagaattcct	tattgagaag	1380
	gcagtgattt	cccaggatt	tgatgtcttt	gccaaaaaga	accagggaat	cctggagttc	1440
	tatggtgatg	acatcgccct	gctgaagctg	gccagaaaag	taaagatgtc	caccatgcc	1500
35	aggcccatct	gccttccctg	caccatggag	gccaatctgg	ctctgcggag	acctcaaggc	1560
	agcacctgta	gggacctga	gaatgaactg	ctgaacaaac	agagtgttcc	tgctcatttt	1620
40	gtcgccttga	atgggagcaa	actgaacatt	aaccttaaga	tgggagtgga	gtggacaagc	1680
	tgtgccgagg	tcgtctccca	agaaaaaacc	atgttcccca	acttgacaga	tgtcagggag	1740
	gtggtgacag	accagtttct	atgcagtggg	accagggagg	atgagagtcc	ctgcaagggt	1800
45	gtgaccacca	ctccattgtc	ttcggcccag	cctcaaggat	cctgctctct	ggagggggta	1860
	gagatcaaag	gtggctcctt	ccgacttctc	caagagggcc	aggcactgga	atacgtgtgt	1920
50	ccttctggct	tctaccgta	ccctgtgcag	acacgtacct	gcagatccac	ggggtcctgg	1980
	agcacctgc	agactcaaga	tcgaaaaact	gtcaagaagg	cagagtgcag	agcaatccgc	2040
55	tgtccacgac	cacaggactt	cgagaacggg	gaataccggc	cccggctctc	ctactacaat	2100
	gtgagtgatg	agatctcttt	cactgctat	gacggttaca	ctctccgggg	ctctgccaat	2160
	cgcacctgcc	aagtgaatgg	ccgggtggagt	ggcgagacag	cgatctgtga	caacggagcg	2220
60	gggtactgct	ccaaccag	catccccatt	ggcacaagga	aggtgggag	ccgtaccgc	2280
	cttgaagaca	gcgtcaccta	ccactgcagc	cgggggctta	ccctgcgtgg	ctcccagcgg	2340
65	cgaacatgtc	aggaaggtgg	ctcttggagc	gggacggagc	cttctgcca	agactccttc	2400

ES 2 745 825 T3

	atgtacgaca cccctcaaga ggtggccgaa gctttcctgt cttccctgac ggagaccata	2460
	gaaggagtcg atgccgagga tgggcacagc ccaggggaac aacagaagcg gaggatcatc	2520
5	ctagaccctt caggctccat gaacatctac ctggtgctag atggatcaga cagcattggg	2580
	gccggcaact tcacaggagc caaaaagtgt ctagtcaact taattgagaa ggtggcaagt	2640
10	tatggtgtga agccaagata tgctctagtg acatatgcca cataccccag aatttgggtc	2700
	aaagtgtctg accaagagag cagcaatgca gactgggtca cgaagaagct cagtgaaatc	2760
	aattatgaag accacaagtt gaagtcaggg actaacacca agagggccct ccaggcagtg	2820
15	tacagcatga tgagttggcc agaggacatc cctcctgaag gctggaaccg caccgcctat	2880
	gtcatcatcc tcatgaccga tggattgcac aacatgggcg gggaccaat tactgtcatt	2940
20	gatgagatcc gggacttggt atacatcggc aaggatcgtg aaaacccgag ggaggattat	3000
	ctggatgtct atgtgtttgg ggttggacct ttggtggacc aagtgaacat caatgctttg	3060
25	gcttccaaga aagacaatga gcaacatgtg ttcaaagtca aggatatgga aaacctggaa	3120
	gacgttttct tccaaatgat tgatgaaagc cagtctctga gtctctgtgg catggtttgg	3180
	gaacacagca agggataccga ttaccacaag caaccatggc aggccaagat ctcagtcact	3240
30	cgcccttcca agggacatga gagctgtatg ggggctgtgg tgtctgagta ctttgtgctg	3300
	acagcagcac attgttttac tgtggacgac aaggaacact caatcaaggt cagcgtggga	3360
35	gggaagaagc gggacctgga gatagaaaaa gtccatattc accccgacta caacattagc	3420
	gagaaaaaag aagcaggaat tcctgaattt tatgactatg acgttgccct gatcaagctc	3480
40	aagaataagt tgaattatga cccgactatc aggcccattt gtctcccctg caccgagggga	3540
	acaactcgag ctttgaggct tcctccaact accacttgcc agcaacagaa ggaagagctg	3600
	ctccctgcac aggatatcaa agctctgttt gtgtctgagg aggagaagaa gctgactcgg	3660
45	aaggaggtct acatcaagaa tggggataag aaaggcagct gtgagagaga tgctcaatat	3720
	gccccaggct atgacaaagt caaggacatc tcggaggtgg tcaccctcgg gttcctttgt	3780
50	actggaggag tgagtcccta tgctgacccc aatacttgca gaggtgattc tggcggcccc	3840
	ttgatagttc acaagagaag tcgtttcatt caagttgggtg tcatcagctg gggagtagtg	3900
	gatgtctgca aaaaccagaa gcggcaaaaag caggtacctg ctcacgcccg agactttcac	3960
55	gtcaacctct tccaagtgct gccctggctg aaggagaaac tccaagatga ggatttgggt	4020
	tttctctaag gggtttctg ctggacaggg gcgcgggatt gaattaaac agctgcgaca	4080
60	acactt	4086
	<210> 5	
	<211> 2767	
	<212> ADN	
65	<213> Mus musculus	

ES 2 745 825 T3

<400> 5

5	gctccatcac acagtccatg gaaagactga tcttttaaat tgggggtagt ggaggtggtg	60
	gtctgtgctt gttaggaggg gtctgggggc taagagggag ctttgaaagg gaagttctgg	120
	cccttgggtca gtcaagggtg gggctcacat agtttctggt tcctcagttg gcagttcagc	180
10	tggggccctc cttcatgaat gttccgggaa gcagtggctg cgtgcgcagg gtaggctggc	240
	caggctgcag atgccagagc agattgcata aaaggtagg ggacagtggg aaaggggtgt	300
15	agccagatcc agcatttggg tttcagtttg gacaggagggt caaataggca cccagagtga	360
	cctggagagg gctttggggc actggactct ctggtgcttt ccatgacaat ggagagcccc	420
	cagctctgcc tcgtcctctt ggtcttaggc ttctcctctg gaggtgtgag cgcaactcca	480
20	gtgcttgagg cccggcccca agtctcctgc tctctggagg gagtagagat caaaggcggc	540
	tcctttcaac ttctccaagg cggtcaggcc ctggagtacc tatgtccctc tggcttctac	600
25	ccataccccg tgcagactcg aacctgcaga tccacaggct cctggagcga cctgcagacc	660
	cgagacaaaa agattgtcca gaaggcggaa tgcagagcaa tacgctgccc acgaccgcag	720
30	gactttgaaa atggggaatt ctggccccgg tcccccttct acaacctgag tgaccagatt	780
	tcttttcaat gctatgatgg ttacgttctc cggggctctg ctaatcgcac ctgccaagag	840
	aatggccggt gggatgggca aacagcaatt tgtgatgatg gagctggata ctgtcccaat	900
35	cccggtattc ctattgggac aaggaagggt ggtagccaat accgccttga agacattggt	960
	acttaccact gcagccgggg acttgtcctg cgtggctccc agaagcgaag gtgtcaagaa	1020
40	ggtggctcat ggagtgggac agagccttcc tgccaagatt ccttcatgta tgacagccct	1080
	caagaagtgg ccgaagcatt cctatcctcc ctgacagaga ccatcgaagg agccgatgct	1140
45	gaggatgggc acagcccagg agaacagcag aagaggaaga ttgtcctaga cccctcgggc	1200
	tccatgaata tctacctggt gctagatgga tcagacagca tcggaagcag caacttcaca	1260
	ggggctaagc ggtgcctcac caacttgatt gagaagggtg cgagttacgg ggtgaggcca	1320
50	cgatatggtc tcctgacata tgctacagtc cccaaagtgt tggtcagagt gtctgatgag	1380
	aggagttagc atgccgactg ggtcacagag aagctcaacc aaatcagtta tgaagaccac	1440
55	aagctgaagt cagggaccaa caccaagagg gctctccagg ctgtgtatag catgatgagc	1500
	tgggcagggg atgccccgcc tgaaggctgg aatagaacct gccatgtcat catcattatg	1560
60	actgatggct tgcacaacat ggggtggaaac cctgtcactg tcattcagga catccgagcc	1620
	ttgctggaca tcggcagggg tccccaaaat cccagggagg attacctgga tgtgtatgtg	1680
	tttggggtcg ggcctctggt ggactccgtg aacatcaatg ccttagcttc caaaaaggac	1740
65	aatgagcatc atgtgtttaa agtcaaggat atggaagacc tggagaatgt tttctaccaa	1800

ES 2 745 825 T3

	atgattgatg aaaccaaadc tctgagtctc tgtggcatgg tgtgggagca taaaaaaggc	1860
	aacgattatc ataagcaacc atggcaagcc aagatctcag tcaactcgccc tctgaaagga	1920
5	catgagacct gtatgggggc cgtgggtgtct gagtacttcg tgctgacagc agcgcactgc	1980
	ttcatgggtg atgatcagaa acattccatc aaggctcagcg tgggggggtca gaggcgggac	2040
10	ctggagattg aagaggtcct gttccacccc aaatacaata ttaatgggaa aaaggcagaa	2100
	gggatccctg agttctatga ttatgatgtg gccctagtca agctcaagaa caagctcaag	2160
	tatggccaga ctctcaggcc catctgtctc ccctgcacgg agggaaccac acgagccttg	2220
15	aggcttcctc agacagcccac ctgcaagcag cacaaggaac agttgctccc tgtgaaggat	2280
	gtcaaagctc tgtttgtatc tgagcaaggg aagagcctga ctcggaagga ggtgtacatc	2340
20	aagaatgggg acaagaaagc cagttgtgag agagatgcta caaaggccca aggctatgag	2400
	aaggctcaaag atgcctctga ggtggctact ccacggttcc tctgcacagg aggggtggat	2460
25	ccctatgctg accccaacac atgcaaagga gattccgggg gccctctcat tgttcacaag	2520
	agaagccgct tcattcaagt tgggtgtgatt agctgggggag tagtagatgt ctgcagagac	2580
	cagagggcggc aacagctggt accctcttat gcccgggact tccacatcaa cctcttccag	2640
30	gtgctgccct ggctaaagga caagctcaaa gatgaggatt tgggttttct ataaagagct	2700
	tcctgcaggg agagtgtgag gacagattaa agcagttaca ataacaaaaa aaaaaaaaaa	2760
35	aaaaaaa	2767

40 <210> 6
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 6
 gctgagctgc cagtcaagga 20

50 <210> 7
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 7
 ggccccgctg agctgccagt 20

60 <210> 8
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

65 <220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 8
 5 cggaacatcc aagcgggagg 20
 <210> 9
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 9
 15 cttcccgga acatccaagc 20
 <210> 10
 <211> 20
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 10
 atctgtgtc tggcacctgc 20
 <210> 11
 <211> 20
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 11
 gtcacattcc cttcccctgc 20
 <210> 12
 <211> 20
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 12
 gacctgtca cattccctc 20
 <210> 13
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 13
 55 gacctagacc tggtcacatt 20
 <210> 14
 <211> 20
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 14
 actccagacc tagacctggt 20

10 <210> 15
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 15
 gctgaaactc cagacctaga 20

25 <210> 16
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 16
 gtccaagctg aaactccaga 20

40 <210> 17
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 17
 ctcaagtgtcc aagctgaaac 20

55 <210> 18
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 18
 aggagagaag ctgggcctgg 20

<210> 19
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 19
 gaaggcagga gagaagctgg 20

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

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5 <400> 20
 gtggtgtca cacctccaga 20
 <210> 21
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15 <400> 21
 ccctccagag agcaggatcc 20
 <210> 22
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 22
 tctaccccct ccagagagca 20
 <210> 23
 <211> 20
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 23
 ttgatctcta ccccctccag 20
 <210> 24
 <211> 20
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 24
 tggagaagtc ggaaggagcc 20
 <210> 25
 <211> 20
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 25
 ccctctgga gaagtcgaa 20
 <210> 26
 <211> 20
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 26
 gcctggcct cttggagaag 20
 <210> 27
 10 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 27
 tcagtgct gccctctg 20
 20 <210> 28
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 28
 30 agaagccaga aggacacag 20
 <210> 29
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 29
 40 acggtagaa gccagaagga 20
 <210> 30
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 30
 50 cgtgtctgca cagggtacg 20
 <210> 31
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 31
 aggggtctcc aggacccgt 20
 <210> 32
 65 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 32
 ttgctctgca ctctgcctc 20

 10 <210> 33
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 33
 20 tattccccgt tctcgaagtc 20

 <210> 34
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 34
 30 cattgtagta gggagaccgg 20

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

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 35
 40 cactcacatt gtagtaggga 20

 <210> 36
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50
 <400> 36
 tctcatcact cacattgtag 20

 <210> 37
 <211> 20
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60
 <400> 37
 aagatctc atcactcaca 20

 65 <210> 38

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

5

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 38
 agtggaaga gatctcatca 20

10

<210> 39
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 39
 catagcagtg gaaagagatc 20

20

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

25

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30

<400> 40
 aaccgtcata gcagtggaaa 20

35

<210> 41
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 41
 gagtgaacc gtcatagcag 20

45

<210> 42
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 42
 cccggagagt gtaaccgtca 20

55

<210> 43
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 43
 cagagccccg gagagtgtaa 20

65

5
 <210> 44
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10
 <400> 44
 gattgacaga gccccggaga 20

15
 <210> 45
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20
 <400> 45
 aggtgacgatt ggcagagccc 20

25
 <210> 46
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30
 <400> 46
 ctgtgacaggt gcgattgca 20

35
 <210> 47
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

40
 <400> 47
 cattcacttg gcaggtgca 20

45
 <210> 48
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 48
 atcgtgtct gccactcca 20

55
 <210> 49
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 49
 tcacagatcg ctgtctgcc 20

65

5
 <210> 50
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10
 <400> 50
 ccgtgtcac agatcgctgt 20

15
 <210> 51
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20
 <400> 51
 cccgctccgt tgcacagat 20

25
 <210> 52
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30
 <400> 52
 cagtaccccg ctccgtgtc 20

35
 <210> 53
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

40
 <400> 53
 ttgagcagt acccgctcc 20

45
 <210> 54
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50
 <400> 54
 acctccttg tgccaatggg 20

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

60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65
 <400> 55
 ctgccacct tcctgtgcc 20

5 <210> 56
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10 <400> 56
 cgctgtcttc aaggcgtac 20

<210> 57
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 57
 gctgcagtgg taggtgacgc 20

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

25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30 <400> 58
 cccccggctg cagtggtagg 20

35 <210> 59
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 59
 ggtaagcccc cgctgcagt 20

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

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400> 60
 acgcagggta agccccggc 20

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

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 61

ggagccacgc agggtaagcc 20
 <210> 62
 <211> 20
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10
 <400> 62
 gccgctggga gccacgcagg 20
 <210> 63
 <211> 20
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20
 <400> 63
 caagagccac cttcctgaca 20
 25 <210> 64
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 64
 ccgctccaag agccacctc 20
 35 <210> 65
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 65
 45 tccgtccgc tccaagagcc 20
 <210> 66
 <211> 20
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 66
 gaaggctccg tccogctcca 20
 <210> 67
 <211> 20
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65

<400> 67
 tggcaggaag gctccgtccc 20

5 <210> 68
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 68
 gagtcttggc aggaaggctc 20

15 <210> 69
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 69
 atgaaggagt ctggcagga 20

25 <210> 70
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 70
 cttcggccac ctcttgaggg 20

35 <210> 71
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 71
 ggaaagcttc gcccacctct 20

45 <210> 72
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 72
 aagacaggaa agcttcggcc 20

55 <210> 73
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 73
 tcaggaaga caggaaagct 20

5 <210> 74
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 74
 tcgactcctt ctatgtctc 20

15 <210> 75
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 75
 cttctgttgt tcccctgggc 20

25 <210> 76
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 76
 ttcattggagc ctgaagggtc 20

35 <210> 77
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 77
 tagatgttca tggagcctga 20

45 <210> 78
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 78
 accaggtaga tttcatgga 20

55 <210> 79
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>

65 <220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 79
 5 tctagcacca ggtagatggt 20
 <210> 80
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 80
 15 gatccatcta gcaccaggta 20
 <210> 81
 <211> 20
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 81
 ctgtctgac catctagcac 20
 <210> 82
 <211> 20
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 82
 ccaatgctgt ctgatccatc 20
 <210> 83
 <211> 20
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 83
 ttggctcct gtgaagttgc 20
 <210> 84
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 84
 55 acacttttg gctcctgtga 20
 <210> 85
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 85
 gactagacac ttttggtc 20

10 <210> 86
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 86
 taagtgact agacacttt 20

25 <210> 87
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 87
 ctcaattaag tgactagac 20

40 <210> 88
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 88
 caccttctca attaagttga 20

55 <210> 89
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 89
 acttgccacc ttctcaatta 20

<210> 90
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 90
 accataactt gccaccttct 20

<210> 91
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 91
 cttcacacca taactgcca 20

10 <210> 92
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 92
 tcttgcttc acaccataac 20

25 <210> 93
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 93
 atgtggcata tgtcactaga 20

40 <210> 94
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 94
 cagacacttt gacccaaatt 20

55 <210> 95
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 95
 ggtcttcata attgattca 20

<210> 96
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 96
 actgtgggc tcataattg 20

<210> 97
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5 <400> 97
 acttcaactt gtggtcttca 20
 <210> 98
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15 <400> 98
 tcctgactt caactgtgg 20
 <210> 99
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 99
 tgttagtccc tgactcaac 20
 <210> 100
 <211> 20
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 100
 tcttgggtgtt agtccctgac 20
 <210> 101
 <211> 20
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 101
 tgtacactgc ctggaggcc 20
 <210> 102
 <211> 20
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 102
 tcatgctgta cactgcctgg 20
 <210> 103
 <211> 20
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 103
 gttccagcct tcaggagga 20
 <210> 104
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15
 <400> 104
 ggtgcgggtc cagcctcag 20
 <210> 105
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25
 <400> 105
 atggcgggtg cgggtccagc 20
 <210> 106
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35
 <400> 106
 gatgacatgg cgggtgcggt 20
 <210> 107
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45
 <400> 107
 gaggatgatg acatggcggg 20
 <210> 108
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55
 <400> 108
 cccatgtgt gcaatccatc 20
 <210> 109
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 109
 tccccgccca tgttgcaaa 20

 10 <210> 110
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 110
 20 atgggtccc cgccatggt 20

 <210> 111
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 111
 30 acagtaattg ggtccccgcc 20

 <210> 112
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 112
 40 tcaatgacag taattgggtc 20

 <210> 113
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50

 <400> 113
 atctcatcaa tgacagtaat 20

 <210> 114
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60

 <400> 114
 tcccgatct catcaatgac 20

 65 <210> 115

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

5

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 115
 acatccagat aatcctcct 20

10

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

15

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 116
 acatagacat ccagataatc 20

20

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

25

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 117
 ccaaacacat agacatccag 20

30

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

35

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 118
 agcattgatg ttcacttgt 20

40

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

45

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 119
 agccaaagca ttgatgtca 20

50

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

55

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 120
 ctggaagcc aaagcattga 20

60

65

<210> 121
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 121
 10 gtccttcttg gaagccaaag 20
 <210> 122
 <211> 20
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20 <400> 122
 ctcatgtct ttctggaag 20
 <210> 123
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30 <400> 123
 atgttgctca ttgtcttct 20
 <210> 124
 <211> 20
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 40 <400> 124
 gaacacatgt tgctcattgt 20
 <210> 125
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 125
 gacttgaac acatgttgct 20
 <210> 126
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 126
 65 atccttgact tgaacacat 20

5 <210> 127
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 10 <400> 127
 ttccatatcc tgacttga 20

 15 <210> 128
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 128
 caggtttcc ataccttga 20

 25 <210> 129
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 129
 ctcagagact ggcttcatc 20

 35 <210> 130
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 45 <400> 130
 cagagactca gagactggct 20

 50 <210> 131
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 55 <400> 131
 atgccacaga gactcagaga 20

 60 <210> 132
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 65 <400> 132

caaacctatgc cacagagact 20
 <210> 133
 <211> 20
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10
 <400> 133
 tgttcccaaa ccatgccaca 20

 <210> 134
 <211> 20
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20
 <400> 134
 ttgtggaat cggtagccct 20
 25
 <210> 135
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 135
 35 ggttgctgt ggtaatcgg 20

 <210> 136
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 136
 45 tgccatggt gcttggtga 20

 <210> 137
 <211> 20
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55
 <400> 137
 ttgcctgcc atggtgctt 20

 <210> 138
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65

<400> 138
 gagatcttgg cctgccatgg 20

5 <210> 139
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 139
 acagcccca tacagtctc 20

15 <210> 140
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 140
 gacaccacag ccccatata 20

25 <210> 141
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 141
 tactcagaca ccacagcccc 20

35 <210> 142
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 142
 acaaagtact cagacaccac 20

45 <210> 143
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 143
 gtcagcaca agtactcaga 20

55 <210> 144
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 144
 ttgattgagt gtcctgtc 20
 5 <210> 145
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 145
 ctgacctga ttgagtgtc 20
 15 <210> 146
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 146
 tatctccagg tcccgttct 20
 25 <210> 147
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 147
 gaattctgc ttcttttc 20
 35 <210> 148
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 148
 atcaggaat tcctgttct 20
 45 <210> 149
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 149
 cataaaattc aggaattct 20
 55 <210> 150
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 65

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 150
 5 catagtcata aaattcagga 20
 <210> 151
 <211> 20
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 151
 15 tgagcttgat cagggcaacg 20
 <210> 152
 <211> 20
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 152
 25 tattcttgag ctgatcagg 20
 <210> 153
 <211> 20
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 153
 35 gacaaatggg cctgatagtc 20
 <210> 154
 <211> 20
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 154
 45 gttgttcct cggtcaggg 20
 <210> 155
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 155
 55 gctcgagttg ttccctcgg 20
 <210> 156
 <211> 20
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 156
 ctcaaagctc gagttgtcc 20

10 <210> 157
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 157
 ggaagcctca aagctcgagt 20

25 <210> 158
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 158
 gttggaggaa gcctcaaagc 20

40 <210> 159
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 159
 gtgtagttg gaggaagcct 20

55 <210> 160
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 160
 tggcaagtgg tagttggagg 20

<210> 161
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 161
 tgttgctggc aagtggtagt 20

<210> 162
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5 <400> 162
 tccagctcac tcccctgtg 20
 <210> 163
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15 <400> 163
 taaggatcca gctcactccc 20
 <210> 164
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 164
 cagaaataag gatccagctc 20
 <210> 165
 <211> 20
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 165
 agggaccaga aataaggatc 20
 <210> 166
 <211> 20
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 166
 ccacttaggg accagaaata 20
 <210> 167
 <211> 20
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 167
 tccaggactc tcccctcag 20
 <210> 168
 <211> 20
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 168
 aagtcacc cttgctgcc 20
 <210> 169
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15
 <400> 169
 ctgcagaagt cccaccctt 20
 <210> 170
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25
 <400> 170
 cagaaactgc agaagccca 20
 <210> 171
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35
 <400> 171
 aacctctgca ctctgcctc 20
 <210> 172
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45
 <400> 172
 ccctcaaacc tctgcactct 20
 <210> 173
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55
 <400> 173
 tcattgcct caaacctctg 20
 <210> 174
 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 174
 ccacactcat tgccctcaaa 20

 10 <210> 175
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 175
 20 cactgcccac actcattgcc 20

 <210> 176
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 176
 30 ttaggccact gccacactc 20

 <210> 177
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 177
 40 ctagtctga ccttgctgcc 20

 <210> 178
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 178
 50 ctatccttag tcctgacct 20

 <210> 179
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 179
 60 cctagtctca tcctagtct 20

 <210> 180
 65

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

5

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 180
 accctgccta gtctcatcct 20

10

<210> 181
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 181
 ctgtgcaccc tgccctagtct 20

20

<210> 182
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 182
 gcccaccttg tcaccctgcc 20

30

<210> 183
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 183
 cctaaaactg ctccctactcc 20

40

<210> 184
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 184
 gagtcagaaa tgaggcctcaa 20

50

<210> 185
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 185
 ccctactccc atttcacctt 20

60

65

<210> 186
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 186
 10 tggtgtgcaa tcctgcagaa 20
 <210> 187
 <211> 20
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20 <400> 187
 aaaggctgat gaagcctggc 20
 <210> 188
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30 <400> 188
 cctttgacca caaagtggc 20
 <210> 189
 <211> 20
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 189
 aggtaccacc tctttgtggg 20
 45 <210> 190
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 190
 55 tggtgtcac acctgaagag 20
 <210> 191
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 191
 gcagggagca gctctcct 20
 65 <210> 192

<211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 192
 tcctgtgcag ggagcagctc 20
 10 <210> 193
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 193
 ttgatatcct gtgcaggag 20
 20 <210> 194
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 194
 agagcttga tatcctgtgc 20
 30 <210> 195
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 195
 acaaacagag ctttgatc 20
 40 <210> 196
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 196
 tcagacacaa acagagctt 20
 50 <210> 197
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 197
 tcctcctcag acacaaacag 20
 60
 65

5 <210> 198
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10 <400> 198
 acctcctcc gagtcagct 20
 <210> 199
 <211> 20
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20 <400> 199
 atgtagacct cctccgagt 20
 <210> 200
 <211> 20
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30 <400> 200
 ttcttgatgt agacctcct 20
 <210> 201
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 40 <400> 201
 tccccattct tgatgtagac 20
 <210> 202
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 202
 ttcttatccc cattcttgat 20
 <210> 203
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 203
 ctgccttct tatccccatt 20

5 <210> 204
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 10 <400> 204
 tcacagctgc ctttctatc 20

 15 <210> 205
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 20 <400> 205
 tctctctcac agctgcctt 20

 25 <210> 206
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 30 <400> 206
 tgagcatctc tctcacagct 20

 35 <210> 207
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 40 <400> 207
 gcatattgag catctctctc 20

 45 <210> 208
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 55 <400> 208
 tgactttgct atagcctggg 20

 60 <210> 209
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 65 <400> 209

5 tgccttgac ttgtcatag 20
 <210> 210
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10
 <400> 210
 cagtacaaag gaaccgaggg 20
 <210> 211
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20
 <400> 211
 ctctccagt acaaaggaac 20
 <210> 212
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30
 <400> 212
 gactcactcc tccagtacaa 20
 <210> 213
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 40
 <400> 213
 catagggact cactcctcca 20
 <210> 214
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50
 <400> 214
 ggtagcagcata gggactcact 20
 <210> 215
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65

<400> 215
 tcacctctgc aagtattggg 20

5 <210> 216
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 216
 ccagaatcac ctctgcaagt 20

15 <210> 217
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 217
 gggccgcccag aatcacctct 20

25 <210> 218
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 218
 ctctgtgaa ctatcaaggg 20

35 <210> 219
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 219
 cgacttctct tgtgaactat 20

45 <210> 220
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 220
 atgaaacgac ttctctgtg 20

55 <210> 221
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 221
 atgaaacgac ttctctgtg 20

65 <210> 222
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 221
 acttgaatga aacgacttct 20

5 <210> 222
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 222
 acaccaactt gaatgaaacg 20

20 <210> 223
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30 <400> 223
 tccactactc cccagctgat 20

35 <210> 224
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 224
 cagacatcca ctactcccca 20

50 <210> 225
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

60 <400> 225
 ttttgcaga catccactac 20

65 <210> 226
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

70 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

75 <400> 226
 ttctggtttt tgcagacatc 20

80 <210> 227
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

85 <220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 227
 5 tgccgcttct ggttttgca 20
 <210> 228
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 228
 15 tgctttgcc gctctgggt 20
 <210> 229
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 229
 25 ggtacctgct ttgccgctt 20
 <210> 230
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 230
 35 tgagcaggta cctgctttg 20
 <210> 231
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 231
 45 ttcagccagg gcagcactg 20
 <210> 232
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 232
 55 ttctcctca gccagggcag 20
 <210> 233
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 233
 tggagtttct ccttcagcca 20

10 <210> 234
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 234
 tcatcttgga gtttctcctt 20

25 <210> 235
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 235
 aaatcctcat cttggagttt 20

40 <210> 236
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 236
 aaaccctcat cctcatcttg 20

55 <210> 237
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 237
 gtccagcagg aaaccctta 20

<210> 238
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 238
 gccctgtcc agcaggaac 20

<210> 239
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5 <400> 239
 agctgtttta attcaatccc 20
 <210> 240
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15 <400> 240
 aacttgccac ctgtgggtga 20
 <210> 241
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 241
 tcaccttacc cccattcttg 20
 <210> 242
 <211> 20
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 242
 tcaactttca caaaccacca 20
 <210> 243
 <211> 20
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 243
 ccgccagaat cacctgcaag 20
 <210> 244
 <211> 20
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 244
 aggaggaatg aagaaggctt 20
 <210> 245
 <211> 20
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 245
 gccttcctc agggatctgg 20
 <210> 246
 10 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 246
 aaatgtctgg gagtgcagg 20
 20 <210> 247
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 247
 30 gcctagagtg cctccttagg 20
 <210> 248
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 248
 40 ggcatctccc cagataggaa 20
 <210> 249
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 249
 aggagctag tcctggaaga 20
 <210> 250
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 250
 acacctgaag agaaaggctg 20
 <210> 251
 65 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 251
 cccttgacc acaaagtggc 20

 10 <210> 252
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 252
 20 gccctcaagg tagtctcatg 20

 <210> 253
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 253
 30 aaggaagga ggacagaata 20

 <210> 254
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 254
 40 aaaggccaag gagggatgct 20

 <210> 255
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 255
 50 agaggtcct tctgaccatc 20

 <210> 256
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 256
 60 gctgggacag gagagagtc 20

 <210> 257
 65

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

5

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 257
 tcaaattgtct gggagtgtca 20

10

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

15

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 258
 agaaggagaa tggctgaaa 20

20

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

25

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30

<400> 259
 tgctgaccac ttgcatctc 20

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

35

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

40

<400> 260
 caactttcac aaaccacat 20

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

45

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50

<400> 261
 agctctgtga ttctaaggtt 20

55

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

60

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 262
 ccacctgtgg gtgaggagaa 20

65

5
 <210> 263
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10
 <400> 263
 gaggactcac ttgaatgaaa 20

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

15
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20
 <400> 264
 tggaatgatc agggagctag 20

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

25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30
 <400> 265
 gtcccttctc cattttccc 20

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

35
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

40
 <400> 266
 tcaactttt aagttaatca 20

45
 <210> 267
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55
 <400> 267
 ggggtgaggag aacaaggcgc 20

<210> 268
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65
 <400> 268
 ctccaagcc atctttaac 20

5 <210> 269
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 10 <400> 269
 aggactcact tgaatgaaac 20

 15 <210> 270
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 270
 ttccaggcaa ctagagcttc 20

 25 <210> 271
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 271
 cagagtccag cactgtttg 20

 35 <210> 272
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 45 <400> 272
 ccaacctgca gaggcagtgg 20

 50 <210> 273
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 55 <400> 273
 tgcaaggaga ggagaagctg 20

 60 <210> 274
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 65 <400> 274

5 ctaggcaggt tactcaccca 20
 <210> 275
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 275
 caccataact tgccacctgt 20

 15 <210> 276
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 276
 taggtaccac ctctttgtgg 20

 25 <210> 277
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 277
 cttgacctca cctccccaa 20

 35 <210> 278
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 278
 ccacctcttt gtgggcagct 20

 45 <210> 279
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 55 <400> 279
 ttcaciaaacc accatctctt 20

 <210> 280
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 65

<400> 280
 ttctcacctc cgtgtcaca 20

5 <210> 281
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 281
 gaaagtggga ggtgtgcct 20

15 <210> 282
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 282
 acagcaggaa ggaaggta 20

25 <210> 283
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 283
 catgctgacc actggcatc 20

35 <210> 284
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 284
 ggtcaccttg gcaggaaggc 20

45 <210> 285
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 285
 gtatagtgtt acaagtggac 20

55 <210> 286
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 286
 ggacttcct ttgaccacaa 20

5 <210> 287
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 287
 15 tcaccttgac ctcacctccc 20

<210> 288
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 288
 25 tagagtgct ccttaggatg 20

<210> 289
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 289
 35 tgactcaac ttgtgtctg 20

<210> 290
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 290
 45 cagagaagga gaatgtgctg 20

<210> 291
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 291
 55 agggagcagc tcttcctctg 20

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

60 <220>

65 <220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 292
 5 tgttcccctg ggtgccagga 20
 <210> 293
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 293
 15 ggcctggctg tttcaagcc 20
 <210> 294
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 294
 25 gactggcttt catctggcag 20
 <210> 295
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 295
 35 gaaggcttc caggcaacta 20
 <210> 296
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 296
 45 tcactgaaat gaaacgactt 20
 <210> 297
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 297
 60 ggccccaaaa ggccaaggag 20
 <210> 298
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 298
 aatcacctgc aaggagagga 20

10 <210> 299
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 299
 gaccttcagt tgcacacctta 20

25 <210> 300
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 300
 tgatgaagcc tggccccaaa 20

40 <210> 301
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 301
 tagaaagtgg gaggtgttgc 20

55 <210> 302
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 302
 cccatccctg actggtctgg 20

70 <210> 303
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

75 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

80 <400> 303
 ccatgggtat agtgttacia 20

85 <210> 304
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5 <400> 304
 gtgttctctt gactccagg 20
 <210> 305
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15 <400> 305
 ggcctgctcc tcacccagt 20
 <210> 306
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 306
 gaggcctggc tgtttcaag 20
 <210> 307
 <211> 20
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 307
 gactctcccc ttcagtacct 20
 40 <210> 308
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 308
 50 catgggtata ggttacaag 20
 <210> 309
 <211> 20
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 309
 60 gaaggagaat gtgctgaaaa 20
 <210> 310
 <211> 20
 65 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 310
 tcacctggtc ttccaagcca 20
 <210> 311
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15
 <400> 311
 ctccccagat aggaaagga 20
 <210> 312
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25
 <400> 312
 ggactcactt gaatgaaacg 20
 <210> 313
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35
 <400> 313
 ggccgccaga atcacctgca 20
 <210> 314
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45
 <400> 314
 ctacttgaa tgaacgact 20
 <210> 315
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55
 <400> 315
 cttcccagc cttcctcag 20
 <210> 316
 <211> 20
 60
 65

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 316
 agaaagtggg aggtgtgcc 20

 10 <210> 317
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 317
 20 gtcgcagctg ttttaattca 20

 <210> 318
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 318
 30 ccaggactct ccccttcagt 20

 <210> 319
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 319
 40 aggggaaggag gacagaatag 20

 <210> 320
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50
 <400> 320
 gaaatgaggt caaatgtctg 20

 <210> 321
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60
 <400> 321
 ggagagtcag aatgaggtc 20

 65 <210> 322

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

5

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 322
 gtagaaagtg ggaggtgtg 20

10

<210> 323
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 323
 tagaaagatc tctgaagtgc 20

20

<210> 324
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 324
 ctgctctca cccagtcct 20

30

<210> 325
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 325

ctactgggat tctgtgctta 20

40

<210> 326
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 326
 cccaaaaggc caaggagga 20

50

<210> 327
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 327
 tgaccactg gcatctccc 20

60

65

5 <210> 328
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10 <400> 328
 cctgcaagga gaggagaagc 20
 <210> 329
 <211> 20
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20 <400> 329
 ctctcacctc tgcaagtatt 20
 <210> 330
 <211> 20
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30 <400> 330
 ccccaaaagg ccaaggagg 20
 <210> 331
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 40 <400> 331
 gtctccaag ccatcttta 20
 <210> 332
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 332
 gttacaagt gacttaagg 20
 55 <210> 333
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 333
 65 cccatgtgt gcaatcctgc 20

5 <210> 334
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 10 <400> 334
 gagtgaggaa gcatggagaa 20

 15 <210> 335
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 335
 tgctcccacc actgtcatct 20

 25 <210> 336
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 336
 aggcagggta ctcaccaga 20

 35 <210> 337
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 45 <400> 337
 tactgggatt ctgtgcttac 20

 50 <210> 338
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 55 <400> 338
 gcctttcca gccttcctc 20

 60 <210> 339
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 65 <400> 339

5 gtgcaatcct gcagaagaga 20
 <210> 340
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 340
 acaggagaga ggtcccttct 20

 15 <210> 341
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 341
 cccaaaagga gaaagggaaa 20

 25 <210> 342
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 342
 aagcccaggg taaatgctta 20

 35 <210> 343
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 343
 gatgaagcct ggccccaaaa 20

 45 <210> 344
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 344
 tggcagagaa ggagaatgtg 20

 55 <210> 345
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 345
 ttcccagcct ttctcaggg 20

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

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 346
 ggcagagaag gagaatgtgc 20

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

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 347
 acagtgccag gaaacaagaa 20

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

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 348
 taggcagggt actcaccag 20

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

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 349
 ttctctgac ttccaggct 20

45 <210> 350
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 350
 cctgctcctc accccagtcc 20

55 <210> 351
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 351
 tcccactaac ctccattgcc 20

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

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 352
 ttcccttga ccacaaagtg 20

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

25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30 <400> 353
 ctgggtccta ggcaggttac 20

35 <210> 354
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 354
 tccaggcaac tagagttca 20

50 <210> 355
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

60 <400> 355
 gcccatgtg tgcaatcctg 20

65 <210> 356
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

70 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

75 <400> 356
 ggttcccact aacctccatt 20

80 <210> 357
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

85 <220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 357
 5 aggtagagag caagagttac 20
 <210> 358
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 358
 15 ccactaacct ccattgccca 20
 <210> 359
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 359
 25 tcacaaacca ccatctctta 20
 <210> 360
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 360
 35 tactcaccca gataatcctc 20
 <210> 361
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 361
 45 tgctcctcac cccagtcctc 20
 <210> 362
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 362
 55 tctcacagct gcctttctgt 20
 <210> 363
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 363
 gaaagggagg actcactga 20

10 <210> 364
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 364
 ccatcttta accccagaga 20

25 <210> 365
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 365
 tctcacccc agtcctccag 20

40 <210> 366
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 366
 ctggcagaga aggagaatgt 20

55 <210> 367
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 367
 tctccccaga taggaaagg 20

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

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 368
 acttcagctg ctcccaccac 20

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

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 369
 gacagcagga agggaaggt 20

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

10

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 370
 ggagacaaat ggcctataa 20

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

20

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

25 <400> 371
 ctgctccac cactgtcatc 20

<210> 372
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 372
 aggaatgaag aaggcttcc 20

<210> 373
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 373
 gggatctcat cctatcctc 20

<210> 374
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400> 374
 gtgctgggtc ctaggcaggt 20

<210> 375
 <211> 20
 <212> ADN

60

65

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 375
 caaaaggcca aggaggatg 20
 <210> 376
 10 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 376
 ccatgctgac cacttgcat 20
 20 <210> 377
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 377
 30 ggaggctggg acaggagaga 20
 <210> 378
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 378
 40 ggagcagctc ttcctctgga 20
 <210> 379
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 379
 50 tctcacctcc gttgtcacag 20
 <210> 380
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 380
 cagtcctcca gccttccca 20
 <210> 381
 65 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 381
 agtcctccag ccttcccag 20

 10 <210> 382
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 382
 20 tgaaggagtc tgggagagtc 20

 <210> 383
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 383
 30 cagaatcacc tgcaaggaga 20

 <210> 384
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 384
 40 taggaaaggg aggactcact 20

 <210> 385
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50
 <400> 385
 acctggcag gaaggctccg 20

 <210> 386
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60
 <400> 386
 gagacaaatg ggctataaa 20

 65 <210> 387

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

5

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 387
 ctgaagagaa aggctgatga 20

10

<210> 388
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 388
 aatgatcagg gagctagtcc 20

20

<210> 389
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 389
 cttagctgac ctaaaggaat 20

30

<210> 390
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 390
 tgggtatagt gttacaagtg 20

40

<210> 391
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 391
 tgaagagaaa ggctgatgaa 20

50

<210> 392
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 392
 gtgtacaag tggacttaag 20

60

65

5 <210> 393
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10 <400> 393
 acctgtgggt gaggagaaca 20
 <210> 394
 <211> 20
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20 <400> 394
 tcaccagat aatcctccct 20
 <210> 395
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30 <400> 395
 tgtgtcgca gctgtttaa 20
 <210> 396
 <211> 20
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 40 <400> 396
 tggcacatt ccctccct 20
 <210> 397
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 397
 cctggcaca ttccctccc 20
 <210> 398
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 398
 tagacctggg cacattccct 20

5 <210> 399
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 10 <400> 399
 cctagacctg gtcacattcc 20

 15 <210> 400
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 400
 cctccgagt cagcttttc 20

 25 <210> 401
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 401
 ctcttccga gtcagcttt 20

 35 <210> 402
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 45 <400> 402
 agacctcctt ccgagtcagc 20

 50 <210> 403
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 55 <400> 403
 gtagacctcc ttccgagtca 20

 60 <210> 404
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 65 <400> 404

ttgccgctt ctggttttg 20
 <210> 405
 <211> 20
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10 <400> 405
 ctttgccgc ttctggttt 20
 <210> 406
 <211> 20
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20 <400> 406
 cctgctttg ccgcttctgg 20
 25 <210> 407
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 407
 35 tacctgcttt tgccgcttct 20
 <210> 408
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 408
 45 agaaaacca aatcctcatc 20
 <210> 409
 <211> 20
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 409
 tagaaaaccc aatcctcat 20
 <210> 410
 <211> 20
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65

<400> 410
 atagaaaacc caaatcctca 20

5 <210> 411
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 411
 tatagaaaac ccaaatcctc 20

15 <210> 412
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 412
 ttatagaaaa cccaaatcct 20

25 <210> 413
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 413
 cttatagaaa acccaaatcc 20

35 <210> 414
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 414
 cccttatagaa aaacccaatc 20

45 <210> 415
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 415
 cccttataga aaacccaat 20

55 <210> 416
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 416
 ccccttatag aaaaccctaaa 20

5 <210> 417
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 417
 accccttata gaaaaccctaaa 20

20 <210> 418
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30 <400> 418
 aacccttat agaaaaccctaaa 20

35 <210> 419
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 419
 aaaccctta tagaaaaccctaaa 20

50 <210> 420
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

60 <400> 420
 gaaaccctt atagaaaaccctaaa 20

65 <210> 421
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

70 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

75 <400> 421
 ggaaaccctt tatagaaaaccctaaa 20

80 <210> 422
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

85 <220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 422
 5 aggaaacccc ttatagaaa 20
 <210> 423
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 423
 15 caggaaaccc cttatagaaa 20
 <210> 424
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 424
 25 gcaggaaacc ccttatagaa 20
 <210> 425
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 425
 35 agcaggaaac cccttataga 20
 <210> 426
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 426
 45 cagcaggaaa ccccttatag 20
 <210> 427
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 427
 55 ccagcaggaa accccttata 20
 <210> 428
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 428
 tccagcagga aacccttat 20

10 <210> 429
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 429
 tgtccagcag gaaaccctt 20

25 <210> 430
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 430
 ctgtccagca gaaaccctt 20

40 <210> 431
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 431
 cctgtccagc aggaaacccc 20

55 <210> 432
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 432
 ccctgtccag caggaaacccc 20

70 <210> 433
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

75 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

80 <400> 433
 cccctgtcca gcaggaaacc 20

85 <210> 434
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5 <400> 434
 cgcccctgtc cagcaggaaa 20
 <210> 435
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15 <400> 435
 acgcccctgt ccagcaggaa 20
 <210> 436
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 436
 cacgcccctg tccagcagga 20
 <210> 437
 <211> 20
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 437
 ccacgcccct gtccagcagg 20
 <210> 438
 <211> 20
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 438
 cccacgcccc tgtccagcag 20
 <210> 439
 <211> 20
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 439
 tcccacgccc ctgtccagca 20
 <210> 440
 <211> 20
 65 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 440
 atcccacgcc cctgtccagc 20
 <210> 441
 10 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 441
 aatcccacgc ccctgtccag 20
 20 <210> 442
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 442
 30 caatcccacg cccctgtcca 20
 <210> 443
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 443
 40 tcaatcccac gccctgtcc 20
 <210> 444
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 444
 ttcaatccca cgcccctgtc 20
 <210> 445
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 445
 atcaatccc acgccctgt 20
 <210> 446
 65 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 446
 aattcaatcc cacgcccctg 20

 10 <210> 447
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 447
 20 taattcaatc ccacgcccct 20

 <210> 448
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 448
 30 ttaattcaat cccacgcccc 20

 <210> 449
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 449
 40 ttaattcaa tcccacgccc 20

 <210> 450
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50
 <400> 450
 ttttaattca atcccacgcc 20

 <210> 451
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60
 <400> 451
 gtttaattc aatcccacgc 20

 65 <210> 452

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

5

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 452
 tgttttaatt caatcccacg 20

10

<210> 453
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 453
 ctgtttaat tcaatcccac 20

20

<210> 454
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 454
 gctgttttaa ttcaatccca 20

30

<210> 455
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35

<400> 455
 cagctgtttt aattcaatcc 20

40

<210> 456
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 456
 gcagctgttt taattcaatc 20

50

<210> 457
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 457
 cgcagctggt ttaattcaat 20

60

<210> 458
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

65

<220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 458
 5 tgcgagctgt ttaattcaa 20
 <210> 459
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 459
 15 tgtcgcagct gtttaattc 20
 <210> 460
 <211> 20
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 460
 ttgtcgcagc tgtttaatt 20
 <210> 461
 <211> 20
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 461
 gttgtcgcag ctgtttaatt 20
 <210> 462
 <211> 20
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 462
 ttgtgtcgc agctgttta 20
 <210> 463
 <211> 20
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 463
 ttgtgtcgc cagctgtttt 20
 <210> 464
 <211> 20
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 464
 5 ttttgtgtc gcagctggtt 20

 <210> 465
 <211> 20
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 465
 15 ttttgtgt cgcagctgtt 20

 <210> 466
 <211> 20
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 466
 25 ggatccagct cactcccctg 20

 <210> 467
 <211> 20
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 467
 35 aaataaggat ccagctcact 20

 <210> 468
 <211> 20
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 468
 50 gaccagaaat aaggatccag 20

 <210> 469
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 469
 60 cttagggacc agaaataagg 20

 <210> 470
 <211> 20
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5 <400> 470
 caccacctta gggaccagaa 20
 <210> 471
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15 <400> 471
 accaccct tagggaccag 20
 <210> 472
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 472
 aggtccagga ctctcccctt 20
 <210> 473
 <211> 20
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 473
 aaggtccagg actctcccct 20
 <210> 474
 <211> 20
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 474
 aaactgcaga agtcccacc 20
 <210> 475
 <211> 20
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 475
 ggaggcccc gctgagctgc 20
 <210> 476
 <211> 20
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 476
 tcccggaaca tccaagcggg 20
 <210> 477
 10 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 477
 catcacttcc ccggaacatc 20
 20 <210> 478
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 478
 ctggtcacat tccctcccc 20
 30 <210> 479
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 479
 40 ctagacctgg tcacattccc 20
 <210> 480
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 480
 50 ggagtggtgg tcacacctcc 20
 <210> 481
 <211> 20
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 481
 60 acccctcca gagacgagga 20
 <210> 482
 <211> 20
 65 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 482
 atctctaccc cctccagaga 20
 <210> 483
 10 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 483
 ggtacgggta gaagccagaa 20
 20 <210> 484
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 484
 30 ggagagtgta accgtcatag 20
 <210> 485
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 485
 40 tgcgattggc agagccccgg 20
 <210> 486
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 486
 ggcaggtgcg attggcagag 20
 <210> 487
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 487
 ggccattcac ttggcaggtg 20
 <210> 488
 65 <211> 20

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 488
 ttgcacaga tcgctgtctg 20

 10 <210> 489
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 489
 20 aaggagtctt ggcaggaagg 20

 <210> 490
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 490
 30 gtacatgaag gagtcttggc 20

 <210> 491
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 491
 40 aagcttcggc cacctcttga 20

 <210> 492
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50
 <400> 492
 ccatctagca ccaggtagat 20

 <210> 493
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60
 <400> 493
 ggccccaatg ctgtctgac 20

 65 <210> 494

<211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 494
 aattaagttg actagacct 20
 10 <210> 495
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 495
 20 tgccaccttc tcaattaagt 20
 <210> 496
 <211> 20
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30 <400> 496
 taacttgcca ccttctcaat 20
 <210> 497
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 40 <400> 497
 cataacttgc caccttctca 20
 <210> 498
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 498
 acaccataac tgccacctt 20
 <210> 499
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 499
 tcacaccata acttgccacc 20
 65

5
 <210> 500
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10
 <400> 500
 tagtcctga cttcaactg 20

15
 <210> 501
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20
 <400> 501
 tgggttagt ccctgactc 20

25
 <210> 502
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35
 <400> 502
 gcggtccag ccttcaggag 20

40
 <210> 503
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45
 <400> 503
 tcatgaggat gatgacatgg 20

50
 <210> 504
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55
 <400> 504
 ccgcccatgt tgtgcaatcc 20

60
 <210> 505
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65
 <400> 505
 gtaattgggt ccccgcccat 20

5 <210> 506
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10 <400> 506
 aagtcccgga tctcatcaat 20

15 <210> 507
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 507
 aacacataga catccagata 20

25 <210> 508
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 508
 caaagcattg atgttcact 20

35 <210> 509
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 509
 ttgaacaca tgttgctcat 20

50 <210> 510
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400> 510
 ctccagggtt ttccatatcc 20

60 <210> 511
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 511

tcttccaggt ttccatatc 20
 <210> 512
 <211> 20
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10 <400> 512
 agactcagag actggcttc 20
 <210> 513
 <211> 20
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20 <400> 513
 gcctgccatg gttgctgtg 20
 25 <210> 514
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 514
 35 tgactgagat cttggcctgc 20
 <210> 515
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 515
 45 ttctatctcc aggtcccgt 20
 <210> 516
 <211> 20
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 516
 agtcataaaa tcaggaatt 20
 <210> 517
 <211> 20
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65

<400> 517
 cgagttgttc cctcggtgca 20

5 <210> 518
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 518
 agcctcaaag ctcgagttgt 20

15 <210> 519
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 519
 ggaggaagcc tcaaagctcg 20

25 <210> 520
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 520
 gtagttggag gaagcctcaa 20

35 <210> 521
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 521
 caagtgtag ttgaggaag 20

45 <210> 522
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 522
 tcctcagaca caaacagagc 20

55 <210> 523
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 523
 ttctcctct cagacacaaa 20

5 <210> 524
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 524
 tagacctct tccgagtcag 20

20 <210> 525
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30 <400> 525
 ttgatgtaga cctcctccg 20

35 <210> 526
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 526
 cttcttatc cccattctg 20

50 <210> 527
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

60 <400> 527
 gcctttcta tccccattct 20

65 <210> 528
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

70 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

75 <400> 528
 agctgcctt cttatcccca 20

80 <210> 529
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

85 <220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 529
 5 cagctgcctt tcttatcccc 20
 <210> 530
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 530
 15 acagctgcct ttcttatccc 20
 <210> 531
 <211> 20
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 531
 gcatctctct cacagctgcc 20
 <210> 532
 <211> 20
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 532
 agatgtcctt gactttgtca 20
 <210> 533
 <211> 20
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 533
 cagcataggg actcactcct 20
 <210> 534
 <211> 20
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 534
 ccgccagaat cacctctgca 20
 <210> 535
 <211> 20
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 535
 tgaatgaaac gacttctctt 20

10 <210> 536
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 536
 acatccacta ctccccagct 20

25 <210> 537
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 537
 cgcttctggt tttgcagac 20

40 <210> 538
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 538
 tttgcccgt tctggtttt 20

55 <210> 539
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 539
 gcaggtacct gctttgccc 20

70 <210> 540
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

75 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

80 <400> 540
 tcttgagtt tctcctcag 20

85 <210> 541
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5 <400> 541
 ggaacatcca agcggg 16
 <210> 542
 <211> 16
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15 <400> 542
 tggtcacatt ccctc 16
 <210> 543
 <211> 16
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 543
 cctggtcaca ttcct 16
 <210> 544
 <211> 16
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 544
 gacctgtgca cattcc 16
 <210> 545
 <211> 16
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 545
 taacttgcca cctct 16
 <210> 546
 <211> 16
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 546
 cataactgc cacctt 16
 <210> 547
 <211> 16
 60 <212> ADN
 65 <213> Secuencia artificial

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 547
 accataactt gccacc 16
 <210> 548
 10 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 548
 cctccgagt cagctt 16
 20 <210> 549
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 549
 30 ctcttccga gtcagc 16
 <210> 550
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 550
 40 acctcctcc gagtca 16
 <210> 551
 <211> 16
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 551
 ctttctatc cccatt 16
 <210> 552
 <211> 16
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 552
 gccttctta tcccca 16
 <210> 553
 65 <211> 16

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 553
 ctgccttct tatccc 16

 10 <210> 554
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 554
 20 ttgccgct ctggtt 16

 <210> 555
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 555
 30 ctttgccgc ttctgg 16

 <210> 556
 <211> 16
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 556
 40 tgctttgcc gcttct 16

 <210> 557
 <211> 16
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50
 <400> 557
 aaaccctaat cctcat 16

 <210> 558
 <211> 16
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60
 <400> 558
 gaaaaccaa atcctc 16

 65 <210> 559

<211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 559
 tagaaaaccc aaatcc 16
 10 <210> 560
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 560
 atagaaaacc caaatc 16
 20 <210> 561
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30 <400> 561
 cttatagaaa acccaa 16
 <210> 562
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 40 <400> 562
 ccttatagaa aaccca 16
 <210> 563
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 563
 cccttataga aaacc 16
 <210> 564
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 564
 ccccttatag aaaacc 16
 65

5
 <210> 565
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10
 <400> 565
 acccctata gaaaac 16

15
 <210> 566
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20
 <400> 566
 aacccttat agaaaa 16

25
 <210> 567
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30
 <400> 567
 aaaccctta tagaaa 16

35
 <210> 568
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

40
 <400> 568
 gaaaccctt atagaa 16

45
 <210> 569
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55
 <400> 569
 ggaaaccct tataga 16

60
 <210> 570
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65
 <400> 570
 agaaacccc ttatag 16

5 <210> 571
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10 <400> 571
 caggaaacc ctata 16

15 <210> 572
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 572
 gcaggaaacc ccttat 16

25 <210> 573
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 573
 agcaggaaac ccctta 16

35 <210> 574
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 574
 cagcaggaaa cccctt 16

50 <210> 575
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400> 575
 ccagcaggaa acccct 16

60 <210> 576
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 576

5 tccagcagga aacccc 16
 <210> 577
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10 <400> 577
 gtccagcagg aaaccc 16
 <210> 578
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20 <400> 578
 tgtccagcag gaaacc 16
 <210> 579
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30 <400> 579
 ctgtccagca gaaac 16
 <210> 580
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 40 <400> 580
 cctgtccagc aggaaa 16
 <210> 581
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 581
 ccctgtccag caggaa 16
 <210> 582
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 581
 ccctgtccag caggaa 16
 <210> 582
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 582
 cccctgtcca gcagga 16

5 <210> 583
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 583
 gccctgtcc agcagg 16

15 <210> 584
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 584
 cgcccctgtc cagcag 16

25 <210> 585
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 585
 acgcccctgt ccagca 16

35 <210> 586
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 586
 cagcccctg tccagc 16

45 <210> 587
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 587
 ccacgccct gtccag 16

55 <210> 588
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 588
 cccacgcccc tgtcca 16

5 <210> 589
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 589
 tcccacgccc ctgtcc 16

15 <210> 590
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 590
 atcccacgcc cctgtc 16

25 <210> 591
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 591
 aatcccacgc ccctgt 16

35 <210> 592
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 592
 caatcccacg cccctg 16

45 <210> 593
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 593
 tcaatcccac gccct 16

55 <210> 594
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>

65 <220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 594
 5 ttcaatccca cgcccc 16
 <210> 595
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 595
 15 attcaatccc acgccc 16
 <210> 596
 <211> 16
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 596
 aattcaatcc cacgcc 16
 <210> 597
 <211> 16
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 597
 taattcaatc ccacgc 16
 <210> 598
 <211> 16
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 598
 ttaattcaat cccacg 16
 <210> 599
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 599
 55 ttaattcaa tcccac 16
 <210> 600
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 600
 ttttaattca atccca 16

10 <210> 601
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 601
 gtttaattc aatccc 16

25 <210> 602
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 602
 tgtttaatt caatcc 16

40 <210> 603
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 603
 ctgtttaat tcaatc 16

55 <210> 604
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 604
 gctgtttaa ttcaat 16

<210> 605
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 605
 agctgttita attcaa 16

<210> 606
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 606
 cagctgttt aattca 16

<210> 607
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 607
 gcagctgttt taattc 16

<210> 608
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

25 <400> 608
 cgcagctggt ttaatt 16

<210> 609
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 609
 tcgcagctgt ttaaat 16

<210> 610
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 610
 gtcgcagctg ttttaa 16

<210> 611
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400> 611
 tgtcgagct gtttta 16

<210> 612
 <211> 16
 <212> ADN

60

65

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 612
 ttgtcgcagc tgttt 16
 <210> 613
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15
 <400> 613
 gttgtcgcag ctgttt 16
 <210> 614
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25
 <400> 614
 tgtgtcgcga gctgtt 16
 <210> 615
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35
 <400> 615
 ttgtgtcgc agctgt 16
 <210> 616
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45
 <400> 616
 tttgtgtcgc cagctg 16
 <210> 617
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55
 <400> 617
 tttgtgtgc gcagct 16
 <210> 618
 <211> 16

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 618
 ttttgtgt cgcagc 16

 10 <210> 619
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 619
 20 gaaaaccaa atcctca 17

 <210> 620
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 620
 30 agaaaacca aatcctc 17

 <210> 621
 <211> 17
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 621
 40 tagaaaacc aatcct 17

 <210> 622
 <211> 17
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50
 <400> 622
 atagaaaacc caaatcc 17

 <210> 623
 <211> 17
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60
 <400> 623
 ttatagaaaa cccaaat 17

 65 <210> 624

<211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 624
 cttatagaaa acccaaa 17
 10 <210> 625
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 625
 20 ccctatagaa aacccaa 17
 <210> 626
 <211> 17
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30 <400> 626
 cccttataga aaaccba 17
 <210> 627
 <211> 17
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 40 <400> 627
 ccccttatag aaaacc 17
 <210> 628
 <211> 17
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 628
 acccctata gaaaacc 17
 <210> 629
 <211> 17
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 629
 aacccttat agaaaac 17
 65

5
 <210> 630
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10
 <400> 630
 aaaccctta tagaaa 17

<210> 631
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20
 <400> 631
 gaaaccctt atagaaa 17

<210> 632
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30
 <400> 632
 ggaaaccct tatagaa 17

<210> 633
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

40
 <400> 633
 aggaaacccc ttataga 17

45
 <210> 634
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 634
 caggaaacc cttatag 17

55
 <210> 635
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 635
 gcaggaaacc cctata 17

65

5 <210> 636
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 10 <400> 636
 agcaggaaac cccttat 17

 15 <210> 637
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 20 <400> 637
 cagcaggaaa ccctta 17

 25 <210> 638
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 30 <400> 638
 ccagcaggaa acccctt 17

 35 <210> 639
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 40 <400> 639
 tccagcagga aaccctt 17

 45 <210> 640
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 640
 gtccagcagg aaacccc 17

 55 <210> 641
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 60 <400> 641

 65 <400> 641

5 tgtccagcag gaaacc 17
 <210> 642
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 642
 ctgtccagca gaaacc 17

 15 <210> 643
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 643
 cctgtccagc aggaaac 17

 25 <210> 644
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 644
 ccctgtccag caggaaa 17

 35 <210> 645
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 645
 gcccctgtcc agcagga 17

 45 <210> 646
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 55 <400> 646
 cgcccctgtc cagcagg 17

 <210> 647
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 647
 acgcccctgt ccagcag 17

5 <210> 648
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 648
 cacgcccctg tccagca 17

15 <210> 649
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 649
 ccacgcccct gtccagc 17

25 <210> 650
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 650
 cccacgcccc tgtccag 17

35 <210> 651
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 651
 tcccacgccc ctgtcca 17

45 <210> 652
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 652
 atcccacgcc cctgtcc 17

55 <210> 653
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 653
 aatcccacgc ccctgt 17

5 <210> 654
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 654
 caatcccacg cccctgt 17

15 <210> 655
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 655
 tcaatcccac gccctg 17

25 <210> 656
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 656
 ttcaatccca cgcccct 17

35 <210> 657
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 657
 attcaatccc acgcccc 17

45 <210> 658
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 658
 aattcaatcc cacgccc 17

55 <210> 659
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>

65

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 659
 taattcaatc ccacgcc 17
 5
 <210> 660
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 660
 ttaattcaat cccacgc 17
 15
 <210> 661
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 661
 ttaattcaa tcccacg 17
 25
 <210> 662
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 662
 tttaattca atcccac 17
 35
 <210> 663
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 663
 gtttaattc aatcca 17
 45
 <210> 664
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 664
 tgtttaatt caatccc 17
 55
 <210> 665
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 664
 tgtttaatt caatccc 17
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 665
 ctgtttaat tcaatcc 17

<210> 666
 <211> 17
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 666
 gctgtttaa ttcaatc 17

<210> 667
 <211> 17
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

25 <400> 667
 agctgttta attcaat 17

<210> 668
 <211> 17
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 668
 cagctgttt aattcaa 17

<210> 669
 <211> 17
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 669
 gcagctggtt taattca 17

50 <210> 670
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 670
 cgagctggtt taattc 17

60 <210> 671
 <211> 17
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 671
 tcgcagctgt ttaatt 17

<210> 672
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 672
 gtcgcagctg ttttaatt 17

<210> 673
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

25 <400> 673
 tgtcgcagct gttttaa 17

<210> 674
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 674
 ttgtcgcagc tgtttta 17

<210> 675
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 675
 gttgtcgcag ctgtttt 17

<210> 676
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400> 676
 tgttgcgca gctgttt 17

<210> 677
 <211> 17
 <212> ADN

60

65

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 677
 ttgtgtcgc agctgtt 17
 <210> 678
 10 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 678
 ttgtgtcgc cagctgt 17
 20 <210> 679
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 679
 30 tttgtgtgc gcagctg 17
 <210> 680
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 680
 40 ttttgtgtg cgcagct 17
 <210> 681
 <211> 19
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50 <400> 681
 tagaaaaccc aaatcctca 19
 <210> 682
 <211> 19
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60 <400> 682
 atagaaaacc caaatcctc 19
 <210> 683
 65 <211> 19

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 683
 tatagaaaac ccaaatcct 19

 10 <210> 684
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 684
 20 ctatagaaa acccaaac 19

 <210> 685
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 685
 30 ccttatagaa aaccctaat 19

 <210> 686
 <211> 19
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 686
 40 cccttataga aaaccctaa 19

 <210> 687
 <211> 19
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 50
 <400> 687
 ccccttatag aaaaccctaa 19

 <210> 688
 <211> 19
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 60
 <400> 688
 accccttata gaaaaccctaa 19

 65 <210> 689

<211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 689
 aacccttat agaaaacc 19
 10 <210> 690
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 690
 aaaccctta tagaaaacc 19
 20 <210> 691
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 691
 gaaaccctt atagaaaac 19
 30 <210> 692
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 692
 ggaaaccct tatagaaa 19
 40 <210> 693
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 693
 aggaaacccc ttatagaaa 19
 50 <210> 694
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 694
 caggaaacc cttatagaa 19
 60
 65

5 <210> 695
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 10 <400> 695
 gcaggaaacc cctataga 19

 <210> 696
 <211> 19
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 20 <400> 696
 agcaggaaac ccctatag 19

 <210> 697
 <211> 19
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 30
 <400> 697
 cagcagaaa cccctata 19

 <210> 698
 <211> 19
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 40 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 698
 ccagcaggaa acccctat 19
 45
 <210> 699
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 699
 55 tccagcagga aaccctta 19

 <210> 700
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

 <400> 700
 65 gtccagcagg aaaccctt 19

5 <210> 701
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10 <400> 701
 tgccagcag gaaaccct 19

15 <210> 702
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 702
 cctgtccagc aggaaacc 19

25 <210> 703
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 703
 ccctgtccag caggaaacc 19

35 <210> 704
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 704
 cccctgtcca gcaggaaac 19

50 <210> 705
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400> 705
 gccctgtcc agcaggaaa 19

60 <210> 706
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 706

acgcccctgt ccagcagga 19
 <210> 707
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10
 <400> 707
 cacgcccctg tccagcagg 19
 <210> 708
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20
 <400> 708
 ccacgcccct gtccagcag 19
 25
 <210> 709
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 709
 cccacgcccc tgtccagca 19
 35
 <210> 710
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 710
 tcccacgccc ctgtccagc 19
 45
 <210> 711
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 711
 atcccacgcc cctgtccag 19
 55
 <210> 712
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65

<400> 712
 aatcccacgc ccctgtcca 19

5 <210> 713
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 713
 caatcccacg ccctgtcc 19

15 <210> 714
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 714
 tcaatcccac gccctgtc 19

25 <210> 715
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 715
 ttcaatccca cgcccctgt 19

35 <210> 716
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 716
 attcaatccc acgcccctg 19

<210> 717
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400> 717
 aattcaatcc cagcccct 19

<210> 718
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 718
 taattcaatc ccacgccc 19
 5 <210> 719
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 719
 ttaattcaat cccacgccc 19
 15 <210> 720
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 720
 ttaattcaa tcccacgcc 19
 25 <210> 721
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 721
 ttttaattca atcccacgc 19
 35 <210> 722
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 722
 gttttaattc aatcccacg 19
 45 <210> 723
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 723
 tgtttaatt caatcccac 19
 55 <210> 724
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 65

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 724
 ctgtttaat tcaatcca 19
 5
 <210> 725
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 725
 gctgtttaa tcaatccc 19
 15
 <210> 726
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 726
 agctgttta attcaatcc 19
 25
 <210> 727
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 727
 cagctgttt aattcaatc 19
 35
 <210> 728
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 728
 gcagctggtt taattcaat 19
 45
 <210> 729
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 729
 cgcagctggt ttaattcaa 19
 60
 <210> 730
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 730
 tcgcagctgt ttaattca 19

10 <210> 731
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 731
 gtcgcagctg ttttaattc 19

25 <210> 732
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 732
 tgtcgcagct gtttaatt 19

40 <210> 733
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 733
 ttgtcgcagc tgtttaat 19

55 <210> 734
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 734
 gttgtcgcag ctgtttaa 19

<210> 735
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 735
 tgtgtcgcga gctgttta 19

<210> 736
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5 <400> 736
 ttgtgtcgc agctgttt 19
 <210> 737
 <211> 19
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15 <400> 737
 ttgtgtcgc cagctgttt 19
 <210> 738
 <211> 19
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 738
 tttgtgtgc gcagctgtt 19
 <210> 739
 <211> 19
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 739
 ttttgtgtg cgcagctgt 19
 <210> 740
 <211> 18
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 740
 ccccttatag aaaaccca 18
 <210> 741
 <211> 18
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 741
 acccctata gaaaaccc 18
 <210> 742
 <211> 18
 60 <212> ADN
 65

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 742
 aacccttat agaaaacc 18
 <210> 743
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 15
 <400> 743
 aaaccctta tagaaaac 18
 <210> 744
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25
 <400> 744
 gaaaccctt atagaaaa 18
 <210> 745
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35
 <400> 745
 aggaaacccc ttatagaa 18
 <210> 746
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45
 <400> 746
 caggaaaccc cttataga 18
 <210> 747
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55
 <400> 747
 gcaggaaacc cttatag 18
 <210> 748
 <211> 18

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 748
 agcaggaaac ccctata 18

10 <210> 749
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 749
 cagcagaaa cccctat 18

25 <210> 750
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 750
 ccagcaggaa accccta 18

40 <210> 751
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 751
 tccagcagga aaccctt 18

55 <210> 752
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 752
 gtccagcagg aaaccct 18

70 <210> 753
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

75 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

80 <400> 753
 tgtccagcag gaaacccc 18

85 <210> 754

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

5

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 754
 ctgtccagca ggaaaccc 18

10

<210> 755
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 755
 cctgtccagc aggaaacc 18

20

<210> 756
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 756
 ccctgtccag caggaaac 18

30

<210> 757
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 757
 cccctgtcca gcaggaaa 18

40

<210> 758
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 758
 cgcccctgtc cagcagga 18

50

<210> 759
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 759
 acgcccctgt ccagcagg 18

60

65

5
 <210> 760
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10
 <400> 760
 cacgccctg tccagcag 18

<210> 761
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20
 <400> 761
 ccacgccct gtccagca 18

<210> 762
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30
 <400> 762
 cccacgcccc tgtccagc 18

<210> 763
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

40
 <400> 763
 tcccacgccc ctgtccag 18

45
 <210> 764
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55
 <400> 764
 atcccacgcc cctgtcca 18

<210> 765
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65
 <400> 765
 aatcccacgc ccctgtcc 18

5 <210> 766
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10 <400> 766
 caatcccacg cccctgtc 18

15 <210> 767
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 767
 tcaatcccac gccctgt 18

25 <210> 768
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30 <400> 768
 tcaatcccac gccctgt 18

35 <210> 769
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 769
 attcaatccc acgccct 18

50 <210> 770
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400> 770
 aattcaatcc cacgcccc 18

60 <210> 771
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 771

taattcaatc ccacgcc 18
 <210> 772
 <211> 18
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10 <400> 772
 ttaattcaat cccacgcc 18
 <210> 773
 <211> 18
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 20 <400> 773
 ttaattcaa tcccacgc 18
 25 <210> 774
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 774
 35 ttttaattca atcccacg 18
 <210> 775
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 775
 45 gttttaattc aatcccac 18
 <210> 776
 <211> 18
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 776
 tgtttaatt caatcca 18
 <210> 777
 <211> 18
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65

<400> 777
 ctgttttaat tcaatccc 18

5 <210> 778
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 778
 gctgttttaa ttcaatcc 18

15 <210> 779
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 779
 agctgtttta attcaatc 18

25 <210> 780
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 780
 cagctgtttt aattcaat 18

35 <210> 781
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 781
 gcagctgttt taattcaa 18

45 <210> 782
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 782
 cgagctggt ttaattca 18

55 <210> 783
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 783
 tcgcagctgt ttaattc 18

5 <210> 784
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 784
 gtcgcagctg tttaatt 18

20 <210> 785
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30 <400> 785
 tagaaaaccc aaatcctc 18

35 <210> 786
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

45 <400> 786
 atagaaaacc caaatcct 18

50 <210> 787
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

60 <400> 787
 tatagaaaac ccaatcc 18

65 <210> 788
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

70 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

75 <400> 788
 ttatagaaaa cccaatc 18

80 <210> 789
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

85 <220>

<223> Oligonucleótido sintético
 <400> 789
 5 cttatagaaa acccaaat 18
 <210> 790
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 790
 15 ccttatagaa aaccctaaa 18
 <210> 791
 <211> 18
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 25 <400> 791
 cccttataga aaaccctaaa 18
 <210> 792
 <211> 18
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 35 <400> 792
 tgtcgcagct gttttaa 18
 <210> 793
 <211> 18
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 45 <400> 793
 ttgtcgcagc tgtttaa 18
 <210> 794
 <211> 18
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 55 <400> 794
 gttgtcgcag ctgtttaa 18
 <210> 795
 <211> 18
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial
 65

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 795
 tgtgtcgc gctgttt 18

10 <210> 796
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 796
 ttgtgtcgc agctgtt 18

25 <210> 797
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 797
 tttgtgtcg cagctgtt 18

40 <210> 798
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

50 <400> 798
 ttttgtgtc gcagctgt 18

55 <210> 799
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400> 800
 aaaacccaaa tcctca 16

<210> 801
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

5 <400> 801
 agaaaacca aatcct 16

<210> 802
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

15 <400> 802
 tatagaaaac ccaaat 16

<210> 803
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

25 <400> 803
 ttatagaaaa cccaaa 16

<210> 804
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

35 <400> 804
 gcataagagg gtaccagctg 20

<210> 805
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 805
 gtccttagc cagggcagca 20

50

<210> 806
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 806
 tccacccatg ttgtgcaagc 20

60

<210> 807
 <211> 20
 <212> ADN

65

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 5
 <400> 807
 ccacacatg ccacagagac 20
 <210> 808
 10 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 808
 ttccgagtca ggctcttccc 20
 20 <210> 809
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400> 809
 30 ccttcctga aggttctctc 20
 <210> 810
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Cebador
 <400> 810
 40 agtctctgtg gcatggttg g 21
 <210> 811
 <211> 21
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 811
 gggcgaatga ctgagatctt g 21
 <210> 812
 <211> 27
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sonda
 60 <400> 812
 taccgattac cacaagcaac catggca 27
 <210> 813
 65 <211> 22

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 5 <220>
 <223> Cebador

 <400> 813
 cgaagcagct caatgaaatc aa 22

 10 <210> 814
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Cebador

 <400> 814
 20 tgcttgagg gccttctt 18

 <210> 815
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Sonda

 <400> 815
 30 agaccacaag ttgaagtc 18

 <210> 816
 <211> 20
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 <400> 816
 40 gggcaaacag caattgtga 20

 <210> 817
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador
 50
 <400> 817
 tggctacca cctcctgt 20

 <210> 818
 <211> 28
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sonda
 60
 <400> 818
 ctggatactg tccaatccc ggtattcc 28

 65 <210> 819

<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Oligonucleótido sintético

<400> 819
cgaagaagct cagtgaaatc aa 22

10 <210> 820
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Oligonucleótido sintético

20 <400> 820
tgcttgagg gccctctt 18

25

30

35

40

45

50

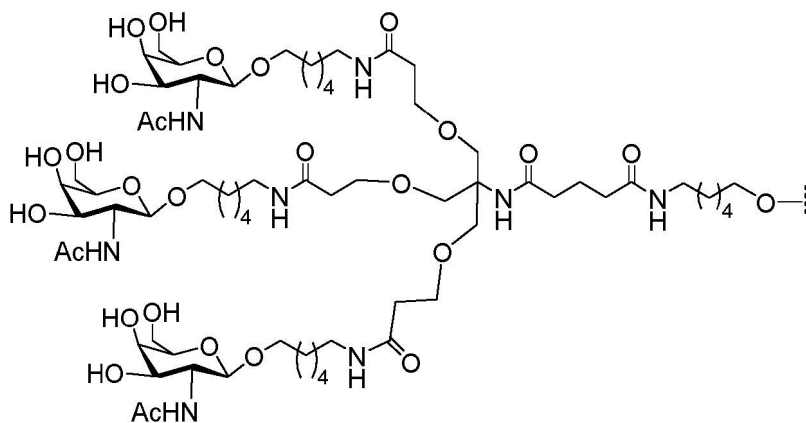
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 20 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de la SEQ ID NO: 440, en donde el oligonucleótido es por lo menos un 80% complementario a la SEQ ID NO: 1 o 2 y en donde el grupo conjugado comprende:



2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el oligonucleótido comprende por lo menos un enlace internucleosídico modificado, por lo menos un azúcar modificado, o por lo menos una nucleobase modificada, opcionalmente en el que el enlace internucleosídico modificado es un enlace internucleosídico de fosfortioato.

3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que el oligonucleótido modificado comprende:

- a) por lo menos 1 enlace internucleosídico de fosfodiéster;
- b) por lo menos 2 enlaces internucleosídicos de fosfodiéster;
- c) por lo menos 3 enlaces internucleosídicos de fosfodiéster;
- d) por lo menos 4 enlaces internucleosídicos de fosfodiéster;
- e) por lo menos 5 enlaces internucleosídicos de fosfodiéster;
- f) por lo menos 6 enlaces internucleosídicos de fosfodiéster;
- g) por lo menos 7 enlaces internucleosídicos de fosfodiéster;

opcionalmente en donde:

- i) cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado se selecciona de un enlace internucleosídico de fosfodiéster y un enlace internucleosídico de fosfortioato; o
- ii) cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado comprende un enlace internucleosídico de fosfortioato.

4. El compuesto de la reivindicación 2 o 4, en el que:

- a) el azúcar modificado es un azúcar bicíclico, opcionalmente en el que el azúcar bicíclico se selecciona del grupo que consiste de: 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); y 4'-CH(CH₃)-O-2' (cEt); o
- b) el azúcar modificado es 2'-O-metoxietilo; y/o
- c) la nucleobase modificada es una 5-metilcitosina.

5. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el oligonucleótido modificado comprende:

- (a) un segmento de hueco que consiste de desoxinucleósidos enlazados;
- (b) un segmento del ala 5' que consiste de nucleósidos enlazados; y
- (c) un segmento del ala 3' que consiste de nucleósidos enlazados;

en donde el segmento de hueco está colocado inmediatamente adyacente a y entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3' y en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar modificado.

6. El compuesto de la reivindicación 5, en el que el oligonucleótido modificado consiste de 20 nucleósidos enlazados teniendo una secuencia de nucleobases que consiste de la secuencia enumerada en la SEQ ID NO:440, en donde el oligonucleótido modificado comprende un segmento de hueco que consiste de diez desoxinucleósidos enlazados; un segmento del ala 5' que consiste de cinco nucleósidos enlazados; y

un segmento del ala 3' que consiste de cinco nucleósidos enlazados; en donde el segmento de hueco está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3', en donde cada nucleósido de cada segmento del ala comprende un azúcar 2'-O-metoxietilo; en donde cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato y en donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

5 **7.** El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el oligonucleótido es por lo menos un 85%, 90%, 95% o 100% complementario a la SEQ ID NO: 1 o 2.

10 **8.** El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que:

- a) el compuesto es de cadena sencilla; o
- b) el compuesto es de cadena doble; y/o
- c) el compuesto comprende:

- 15 i) ribonucleótidos; o
- ii) desoxirribonucleótidos.

9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el grupo conjugado está enlazado al oligonucleótido modificado:

- 20 i) en el extremo 5' del oligonucleótido modificado; o
- ii) en el extremo 3' del oligonucleótido modificado; o

25 **10.** Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la fórmula:

a)

30

35

40

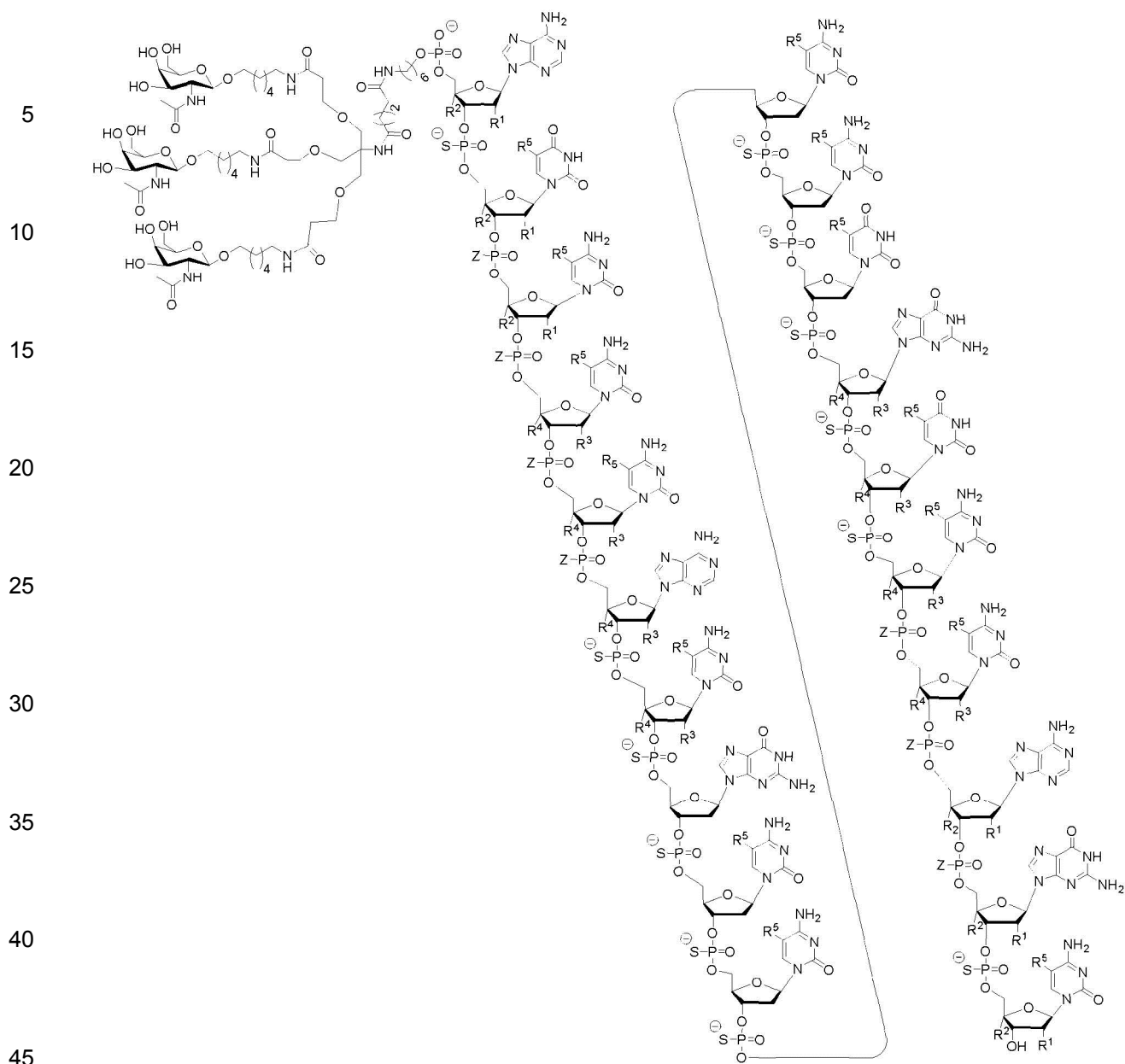
45

50

55

60

65



en donde cualquier R¹ es -OCH₂CH₂OCH₃ (MOE) y R² es H; o R¹ y R² juntos forman un puente en donde R¹ es -O- y R² es -CH₂-, -CH(CH₃)-, o -CH₂CH₂-, y R¹ y R² están directamente conectados de tal manera que el puente resultante se selecciona de: -O-CH₂-, -O-CH(CH₃)- y -O-CH₂CH₂-;

y para cada par de R³ y R⁴ en el mismo anillo, independientemente para cada anillo: cualquier R³ se selecciona de H y -OCH₂CH₂OCH₃ y R⁴ es H; o R³ y R⁴ juntos forman un puente, en donde R³ es -O-, y R⁴ es -CH₂-, -CH(CH₃)-, o -CH₂CH₂- y R³ y R⁴ están directamente conectados de tal manera que el puente resultante se selecciona de: -O-CH₂-, -O-CH(CH₃)- y -O-CH₂CH₂-;

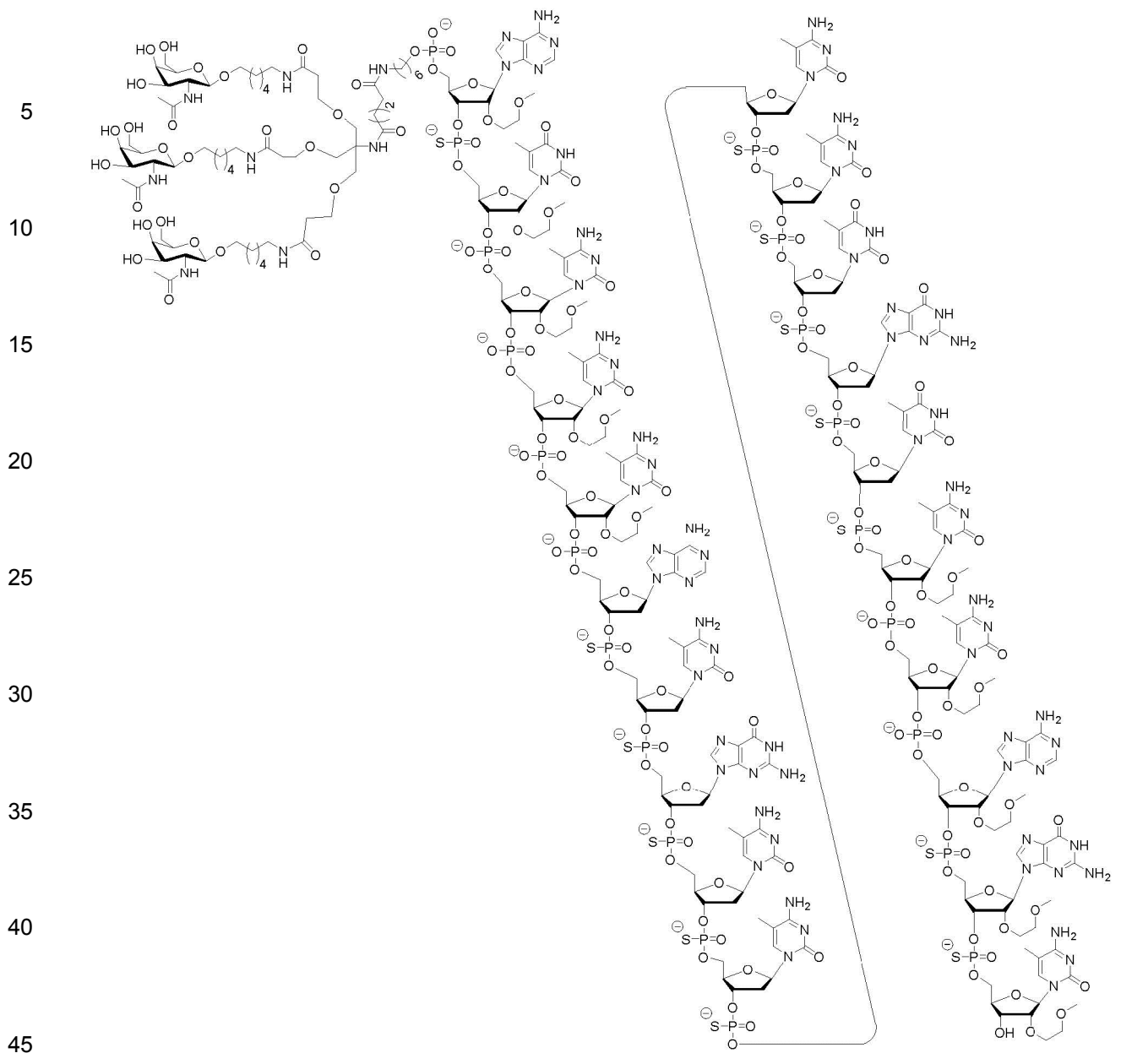
Y R⁵ se selecciona de H y -CH₃;

Y Z se selecciona de S⁻ y O.

b)

60

65



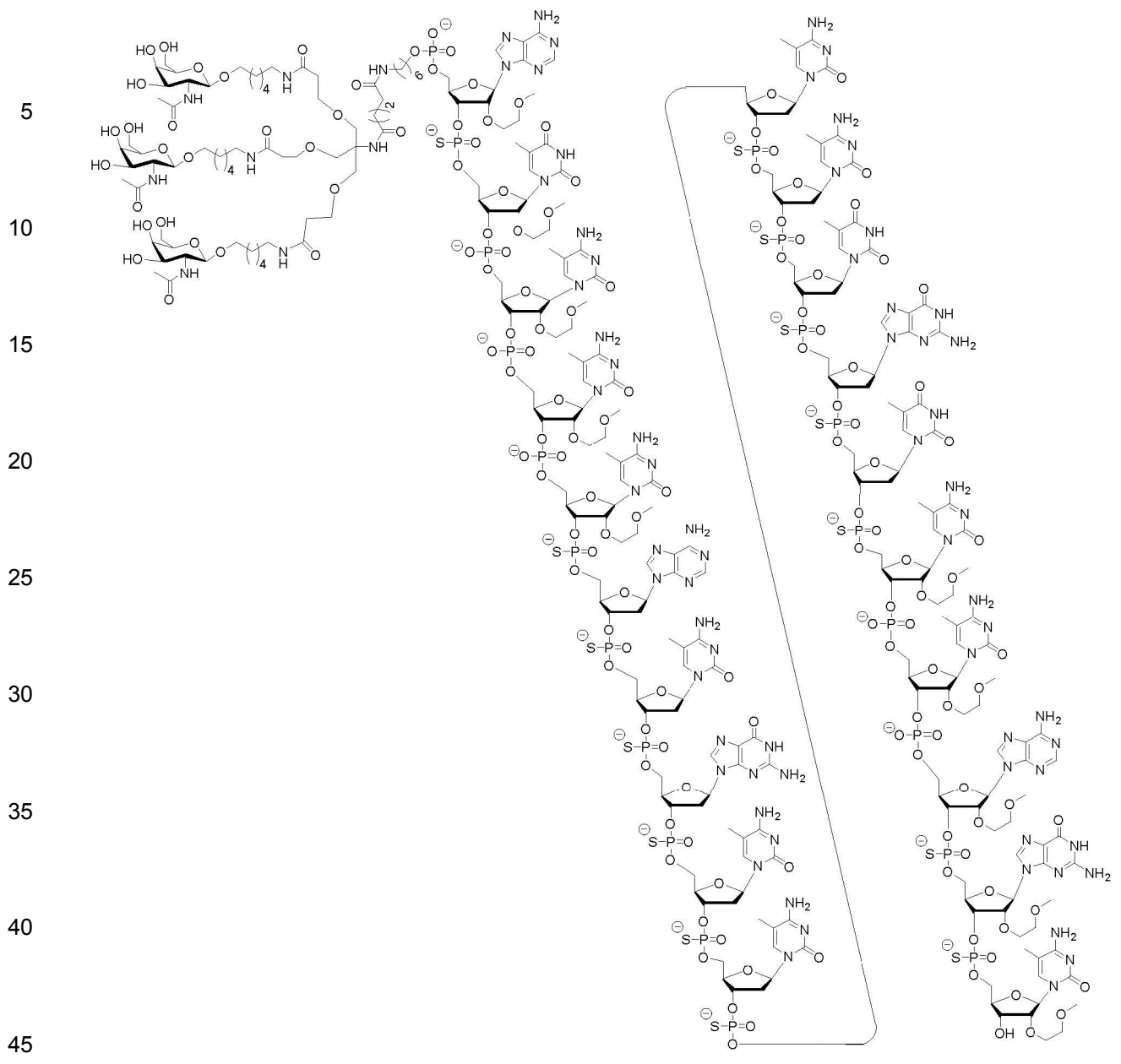
c)

50

55

60

65



5

10

15

20

25

30

35

40

45

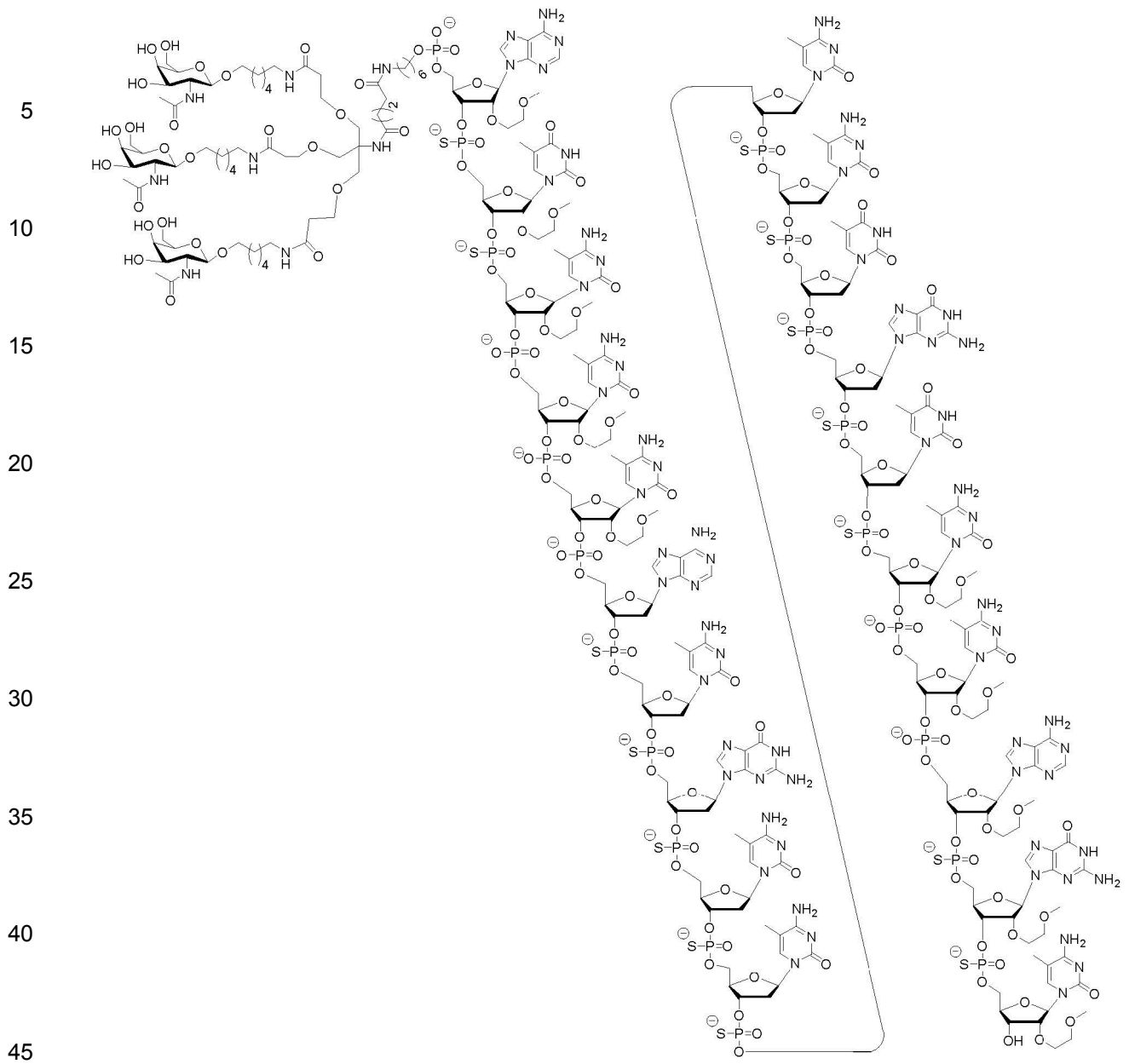
o
d)

50

55

60

65



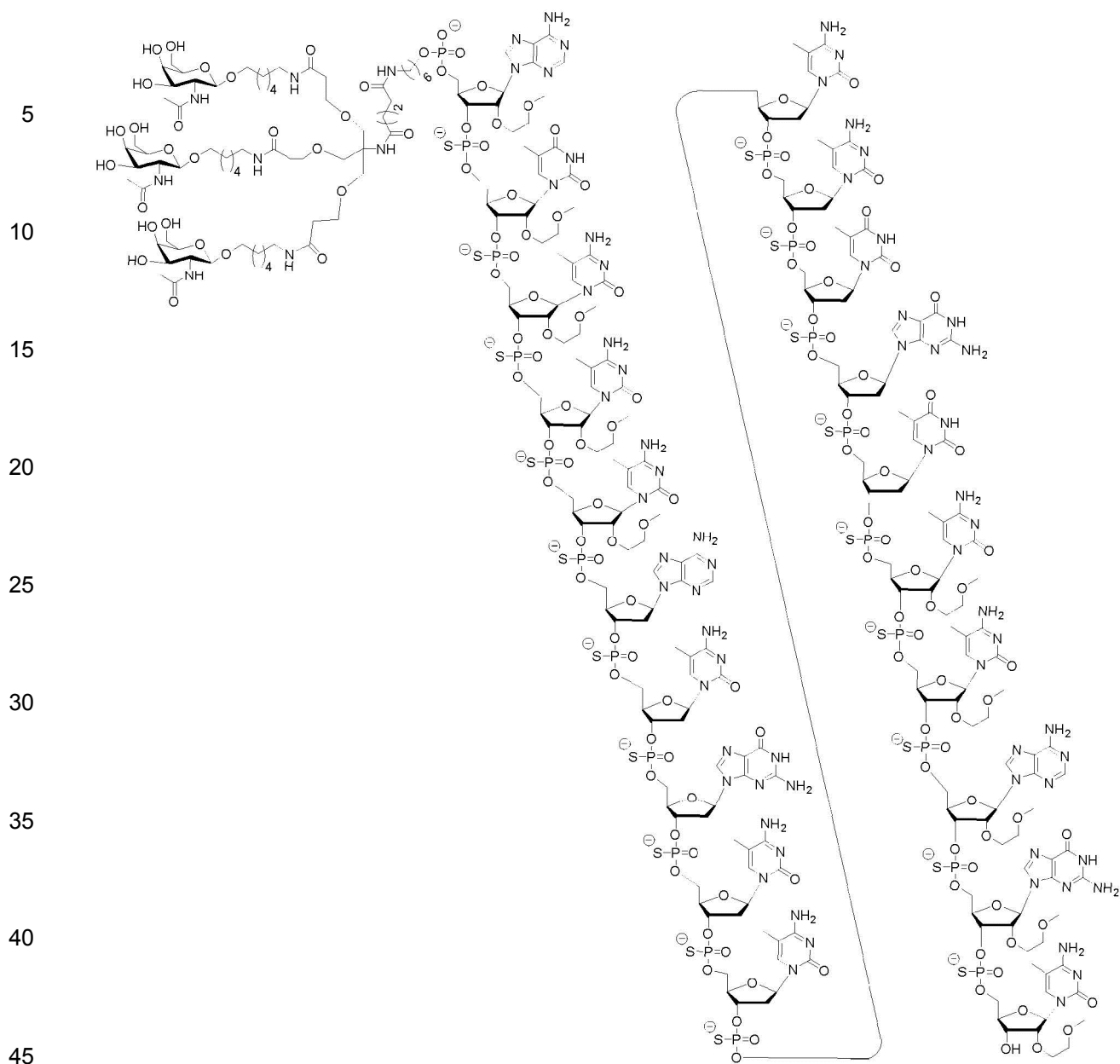
11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la fórmula:

50

55

60

65



5
10
15
20
25
30
35
40
45

12. Una composición que comprende el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una sal del mismo y por lo menos uno de un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

50

13. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una composición de acuerdo con la reivindicación 12 para su uso en el tratamiento, prevención, o mejora de una enfermedad asociada con la desregulación de la vía alternativa del complemento en un sujeto.

55

14. El compuesto o composición para el uso de la reivindicación 13, en el que la enfermedad es:

- 60
- a) degeneración macular, degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), DMAE húmeda, DMAE seca o Atrfia Geográfica;
 - b) una enfermedad renal, opcionalmente en donde la enfermedad renal es nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósito denso (DDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5 o síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS).

65