

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 756 326**

51 Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)

A61K 31/7088 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.07.2011 E 16153949 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 3031920**

54 Título: **Modulación de la expresión de distrofia miotónica-proteína quinasa (DMPK)**

30 Prioridad:

19.07.2010 US 365762 P

19.07.2010 US 365775 P

21.04.2011 US 201161478021 P

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

27.04.2020

73 Titular/es:

IONIS PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)

2855 Gazelle Court

Carlsbad, CA 92010, US y

UNIVERSITY OF ROCHESTER (50.0%)

72 Inventor/es:

BENNETT, C. FRANK;

FREIER, SUSAN M.;

MACLEOD, ROBERT A.;

PANDEY, SANJEY K.;

THORNTON, CHARLES A.;

WHEELER, THURMAN;

CHENG, SENG H.;

LEGER, ANDREW y

WENTWORTH, BRUCE M.

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 756 326 T3

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

DESCRIPCIÓN

Modulación de la expresión de distrofia miotónica-proteína quinasa (DMPK)

5 **Campo**

10 **[0001]** Se describen aquí métodos, compuestos y composiciones para reducir la expresión de DMPK ARNm y proteína en un animal. Además, en el presente documento se describen métodos, compuestos y composiciones que comprenden un inhibidor de DMPK para reducir preferentemente el ARN de CMPexp DMPK, reducir la miotonía o reducir la esleopatía en un animal. Tales métodos, compuestos y composiciones son útiles, por ejemplo, para tratar, prevenir o mejorar la distrofia miotónica tipo 1 (DM1) en un animal.

Antecedentes

15 **[0002]** Distrofia miotónica tipo 1 (DM1) es la forma más común de distrofia muscular en adultos con una estimada frecuencia de 1 en 7.500 (Harper PS., Myotonic Dystrophy. Londres: WB Saunders Company; 2001). DM1 es un trastorno autosómico dominante causado por la expansión de una repetición CTG no codificante en DMPK1. DMPK1 es un gen que codifica una serina/treonina quinasa citosólica (Brook JD, et al., Cell., 1992, 68 (4): 799-808). Las funciones fisiológicas y sustratos de esta quinasa no se han determinado completamente. La repetición CTG expandida se encuentra en la región no traducida (UTR) 3' de DMPK1. Esta mutación conduce al dominio del ARN, un proceso en donde la expresión de ARN que contiene una repetición CUG expandida (CUGexp) induce disfunción celular (Osborne RJ y Thornton CA., Human Molecular Genetics., 2006, 15 (2): R162-R169).

25 **[0003]** El gen DMPK normalmente tiene 5-37 repeticiones CTG en la región no traducida 3'. En la distrofia miotónica tipo I, este número se expande significativamente y está, por ejemplo, en el rango de 50 a más de 3.500 (Harper, Myotonic Dystrophy (Saunders, London, ed,3, 2001); Annu. Rev. Neurosci. 29: 259, 2006; EMBO J. 19: 4439, 2000; Curr Opin Neurol,20: 572, 2007).

30 **[0004]** El tracto CUGexp interactúa con las proteínas de unión de ARN incluyendo proteínas de tipo músculo ciego (MBNL), un empalme del factor, y hace que la transcripción mutante sea retenida en focos nucleares. La toxicidad de este ARN proviene del secuestro de proteínas de unión al ARN y la activación de las vías de señalización. Los estudios en modelos animales han demostrado que los fenotipos de DM1 pueden revertirse si se reduce la toxicidad del ARN de CUGexp (Wheeler TM, et al., Science., 2009, 325 (5938): 336-339; Mulders SA, et al., Proc Natl Acad Sci EE.UU., 2009, 106 (33): 13915-13920).

35 **[0005]** En DM1, el músculo esquelético es el tejido más gravemente afectado, pero la enfermedad también tiene importantes efectos en el músculo cardíaco y liso, la lente ocular, y el cerebro. Los músculos craneales, de la extremidad distal y del diafragma se ven afectados preferentemente. La destreza manual se ve comprometida temprano, lo que causa varias décadas de discapacidad severa. La mediana de edad al morir es de 55 años, generalmente por insuficiencia respiratoria (de Die-Smulders CE, et al., Brain., 1998, 121 (Pt 8): 1557-1563).

45 **[0006]** La tecnología antisentido está emergiendo como un medio eficaz para modular la expresión de ciertos productos génicos y por lo tanto puede resultar ser únicamente útil en un número de, y aplicaciones de investigación de diagnóstico terapéutico para la modulación de DMPK1. Se demostró que la inyección intramuscular de oligonucleótidos completamente modificados dirigidos con la repetición de CAG en ratones bloquea la formación de complejos CUGexp-MBNL1, dispersa los focos nucleares de las transcripciones de CUGexp, mejora el transporte nucleocitoplasmático y la traducción de las transcripciones de CUGexp, libera proteínas MBNL al nucleoplasma, normaliza empalme alternativo de exones dependientes de MBNL y eliminar la miotonía en ratones transgénicos que expresan CUGexp (Wheeler TM, et al., Science., 2009, 325 (5938): 336-339; WO2008/036406). Los oligonucleótidos antisentido complementarios a la repetición CUG expandida en ARN DMPK también se describen en el documento WO2008/018795.

50 **[0007]** En la actualidad no existe un tratamiento que puede modificar el curso de DM1. La carga de la enfermedad, por lo tanto, es significativa. Es, por lo tanto, un objeto en el presente documento proporcionar compuestos, composiciones y métodos para el tratamiento de DM1.

Sumario de la invención

60 **[0008]** La invención proporciona un compuesto que comprende un oligonucleótido antisentido modificado que consta de 10 a 30 nucleósidos enlaces complementario a una región de no repetición de un ARN DMPK que contiene repetición CUG expandida para usar en un método de tratamiento de un animal que tiene distrofia miotónica tipo 1, en donde el oligonucleótido tiene una secuencia de nucleobase que es al menos 90% complementaria a la SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 2 medido sobre la totalidad de dicho oligonucleótido, en donde el oligonucleótido antisentido modificado, cuando se une al ARN DMPK que contiene repetición CUG expandido, activa una ribonucleasa nuclear.

65 **[0009]** La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la

invención, para uso en un método para tratar un animal que tiene distrofia miotónica de tipo 1.

Resumen de la divulgación

- 5 **[0010]** En este documento se describen métodos, compuestos y composiciones para inhibir la expresión de DMPK y tratar, prevenir, retrasar o mejorar una enfermedad relacionada con DMPK y/o un síntoma de la misma. En ciertos casos, los compuestos y composiciones inhiben DMPK mutante o DMPK CUGexp.
- 10 **[0011]** También se describe en el presente documento un método para reducir la expresión de DMPK en un animal que comprende administrar al animal un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado como se describe adicionalmente en el presente documento dirigido a DMPK.
- 15 **[0012]** También se describe aquí un método para reducir preferentemente CUGexp DMPK, reduciendo miotonía, o reducir spliceopatía en un animal que comprende administrar al animal un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado, tal como se describe adicionalmente en este documento, dirigido a CUGexp DMPK. Se cree que las transcripciones CUGexp DMPK son particularmente sensibles a la eliminación antisentido a través de ribonucleasas nucleares, debido a su mayor tiempo de residencia en el núcleo, y se cree que esta sensibilidad permite la inhibición antisentido efectiva de las transcripciones CUGexp DMPK en tejidos relevantes como el músculo a pesar de las barreras de biodistribución para la absorción de oligonucleótidos antisentido en los tejidos. Los mecanismos antisentido que no provocan la escisión a través de ribonucleasas nucleares, como los ASO de repetición de CAG descritos en, por ejemplo, Wheeler TM, et al., Science., 2009, 325 (5938): 336-339 y WO2008/036406, no proporcionan la misma ventaja terapéutica.
- 20 **[0013]** También se describe aquí un método de tratamiento de un animal con la distrofia miotónica tipo 1. En ciertos casos, el método incluye administrar al animal una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado como se describe adicionalmente en este documento dirigido a DMPK. En ciertos casos, el método incluye identificar un animal con distrofia miotónica tipo 1.
- 25 **[0014]** También se describe aquí un método para tratar, prevenir, retrasar, o aliviar los síntomas y los resultados asociados con el desarrollo de DM1 incluyendo rigidez muscular, miotonía, la desactivación de debilidad distal, debilidad en la cara y la mandíbula músculos, dificultad para tragar, caída de la párpados (ptosis), debilidad de los músculos del cuello, debilidad en los músculos de los brazos y las piernas, dolor muscular persistente, hipersomnía, desgaste muscular, disfagia, insuficiencia respiratoria, latidos cardíacos irregulares, daño muscular del corazón, apatía, resistencia a la insulina y cataratas. También se describe en el presente documento un método para tratar, prevenir, retrasar o mejorar los síntomas y resultados asociados con el desarrollo de DM1 en niños, que incluyen retrasos en el desarrollo, problemas de aprendizaje, problemas de lenguaje y habla y problemas de desarrollo de la personalidad.
- 30 **[0015]** También se describe aquí un método de administración de un oligonucleótido antisentido para contrarrestar RNA dominio por la dirección de la escisión de los transcritos de patógenos.
- 35 **[0016]** En ciertas realizaciones, el DMPK tiene una secuencia como se establece en GenBank nº de acceso NM_001081560,1 (incorporado en el presente documento como SEQ ID NO: 1). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el Nº de acceso de GenBank NT_011109,15 truncado de los nucleótidos 18540696 a 18555106 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 2). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el Nº de acceso de GenBank NT_039413,7 truncado de los nucleótidos 16666001 a 16681000 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 3). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el número de acceso de GenBank NM_032418,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 4). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el Nº de acceso de GenBank AI007148,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 5). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el número de acceso de GenBank AI304033,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 6). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el número de acceso de GenBank BC024150,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 7). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el número de acceso de GenBank BC056615,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 8). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el Nº de acceso de GenBank BC075715,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 793). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el Nº de acceso de GenBank BU519245,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 794). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el número de acceso de GenBank CB247909,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 795). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el Nº de acceso de GenBank CX208906,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 796). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el Nº de acceso de GenBank CX732022,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 797). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el Nº de acceso de GenBank S60315,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 798). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el Nº de acceso de GenBank S60316,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 799). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el Nº de acceso de GenBank NM_001081562,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 800). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el número de acceso GenBank NM_001100,3 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 801).
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

Descripción detallada

5 [0017] 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. Aquí, el uso del singular incluye el
plural a menos que se indique específicamente lo contrario. Aquí, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique
lo contrario. Además, el uso del término "incluido", así como otras formas, como "incluye" e "incluido", no es limitante.
Además, términos como "elemento" o "componente" abarcan tanto elementos como componentes que comprenden
10 una unidad y elementos y componentes que comprenden más de una subunidad, a menos que se indique
específicamente lo contrario.

[0018] Los encabezados de sección usados en este documento son sólo para fines de organización y no deben
interpretarse como limitantes de la materia diana descrita.

15 *Definiciones*

[0019] A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura utilizada en relación con, y los
procedimientos y técnicas de, química analítica, química orgánica sintética y química médica y farmacéutica descritas
20 en el presente documento son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica. Se pueden utilizar
técnicas estándar para la síntesis química y el análisis químico.

[0020] A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos tienen los siguientes significados: "2'-O-metoxietilo"
(también de 2'-MOE y 2'-O(CH₂)₂-OCH₃) se refiere a una modificación de O-metoxi-etilo de la posición 2' de un anillo
de furanosilo. Un azúcar modificado con 2'-O-metoxietilo es un azúcar modificado.

25 [0021] "Nucleótido 2'-O-metoxietilo" significa un nucleótido que comprende un resto de azúcar modificado 2'-O-
metoxietilo.

[0022] "5-metilcitosina" significa una citosina modificada con un grupo metilo unido a la posición 5. Una 5-metilcitosina
30 es una nucleobase modificada.

[0023] "Acerca de" significa dentro de $\pm 7\%$ de un valor. Por ejemplo, si se afirma que "el compuesto afectó al menos
el 70% de inhibición de DMPK", se implica que los niveles de DMPK se inhiben dentro de un rango de 63% y 77%.

35 [0024] "Agente farmacéutico activo" significa la sustancia o sustancias en una composición farmacéutica que
proporcionan un beneficio terapéutico cuando se administran a un individuo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, un
oligonucleótido antisentido dirigido a DMPK es un agente farmacéutico activo.

[0025] "Región diana activa" o "Región diana" significa una región a la que se dirige uno o más compuestos antisentido
40 activos. "Compuestos antisentido activos" se refiere a los compuestos antisentido que reducen los niveles de ácido
nucleico o los niveles de proteína diana.

[0026] "Administrado concomitantemente" se refiere a la co-administración de dos agentes de cualquier manera en
45 donde los efectos farmacológicos de ambos se manifiestan en el paciente al mismo tiempo. La administración
concomitante no requiere que ambos agentes se administren en una sola composición farmacéutica, en la misma
forma de dosificación o por la misma vía de administración. Los efectos de ambos agentes no necesitan manifestarse
al mismo tiempo. Los efectos solo necesitan superponerse por un período de tiempo y no necesitan ser coextensivos.

[0027] "Administración" significa proporcionar un agente a un animal, e incluye, pero no se limita a la administración
50 por un profesional de la medicina y la auto-administración.

[0028] "Agente" significa una sustancia activa que puede proporcionar un beneficio terapéutico cuando se administra
a un animal. "Cebador agente" significa un compuesto terapéutico descrito en este documento. Por ejemplo, un
Cebador agente puede ser un oligonucleótido antisentido dirigido a DMPK. "Segundo agente" significa un segundo
55 compuesto terapéutico descrito en el presente documento (por ejemplo, un segundo oligonucleótido antisentido
dirigido a DMPK) y/o un compuesto terapéutico no DMPK.

[0029] La "mejora" se refiere a una disminución de al menos un indicador, signo o síntoma de una enfermedad,
60 trastorno o afección asociada. La gravedad de los indicadores puede determinarse mediante medidas subjetivas u
objetivas, que son conocidas por los expertos en la materia.

[0030] "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 limitado a, monos y chimpancés.

65 [0031] "Actividad antisentido" significa cualquier actividad detectable o medible atribuible a la hibridación de un
antisentido compuesto a su ácido nucleico diana. En ciertas realizaciones, la actividad antisentido es una disminución

en la cantidad o expresión de un ácido nucleico o proteína diana codificada por dicho ácido nucleico diana.

[0032] "Compuesto antisentido" significa un compuesto oligomérico que es capaz de experimentar la hibridación a una diana de ácido nucleico a través de enlaces de hidrógeno. Los ejemplos de compuestos antisentido incluyen compuestos monocatenarios y bicatenarios, tales como oligonucleótidos antisentido, ARNs, ARNs, snoARN, ARNm y repeticiones satelitales.

[0033] "Inhibición antisentido" se refiere a la reducción de los niveles de ácido nucleico diana o los niveles de proteína diana en presencia de un compuesto antisentido complementario a un ácido nucleico diana en comparación con los niveles diana de ácido nucleico o niveles diana de proteína en ausencia del compuesto antisentido.

[0034] "Oligonucleótido antisentido" significa un oligonucleótido de una sola hebra que tiene una secuencia de nucleobases que permite la hibridación a una región correspondiente o segmento de un ácido nucleico diana.

[0035] "Azúcar bicíclico" significa un anillo de furanosilo modificado por el puente de dos átomos de anillo de carbono no geminal. Un azúcar bicíclico es un azúcar modificado.

[0036] El "ácido nucleico bicíclico" o "BNA" se refiere a un nucleósido o nucleótido en donde la porción de furanosa del nucleósido o nucleótido incluye un puente que conecta dos átomos de carbono en el anillo de furanosa, formando así un sistema de anillo bicíclico.

[0037] "Estructura de tapa" o "resto de tapa terminal" significa modificaciones químicas, que se han incorporado en cualquiera de los extremos de un compuesto antisentido.

[0038] "Región químicamente distinta" se refiere a una región de un compuesto antisentido que es de alguna manera químicamente diferente que otra región del mismo compuesto antisentido. Por ejemplo, una región que tiene nucleótidos de 2'-O-metoxietilo es químicamente distinta de una región que tiene nucleótidos sin modificaciones de 2'-O-metoxietilo.

[0039] "Compuesto antisentido quimérico" se refiere a un compuesto antisentido que tiene al menos dos regiones químicamente distintas.

[0040] "Coadministración" significa la administración de dos o más agentes a un individuo. Los dos o más agentes pueden estar en una única composición farmacéutica, o pueden estar en composiciones farmacéuticas separadas. Cada uno de los dos o más agentes se puede administrar a través de las mismas o diferentes vías de administración. La coadministración abarca la administración paralela o secuencial.

[0041] "Complementariedad" significa la capacidad de emparejamiento entre nucleobases de un Cebador ácido nucleico y un segundo ácido nucleico.

[0042] "Nucleobases contiguas" significa nucleobases inmediatamente adyacentes entre sí.

[0043] "CUGexp DMPK" significa ARN DMPK mutante que contiene una repetición CUG expandida (CUGexp). El gen DMPK de tipo salvaje tiene 5-37 repeticiones CTG en la región no traducida 3'. En un "CUGexp DMPK" (como en un paciente con distrofia miotónica tipo I) este número se expande significativamente y está, por ejemplo, en el rango de 50 a más de 3.500 (Harper, Myotonic Dystrophy (Saunders, Londres, ed.3, 2001); Annu. Rev. Neurosci. 29: 259, 2006; EMBO J. 19: 4439, 2000; Curr Opin Neurol. 20: 572, 2007).

[0044] "Diluyente" significa un ingrediente en una composición que carece de actividad farmacológica, pero es farmacéuticamente necesario o deseable. Por ejemplo, el diluyente en una composición inyectada puede ser un líquido, por ejemplo, solución salina.

[0045] "DMPK" significa cualquier ácido nucleico o proteína de DMPK. DMPK puede ser un DMPK mutante que incluye el ácido nucleico CUGexp DMPK.

[0046] "Expresión DMPK" significa el nivel de ARNm transcrito a partir del gen que codifica DMPK o el nivel de proteína traducida a partir del ARNm. La expresión de DMPK puede determinarse mediante métodos conocidos en la técnica, tales como una transferencia Northern u Western.

[0047] "Ácido nucleico DMPK" significa cualquier codificación de ácido nucleico DMPK. Por ejemplo, un ácido nucleico de DMPK incluye una secuencia de ADN que codifica DMPK, una secuencia de ARN transcrita a partir de ADN que codifica DMPK (incluido el ADN genómico que comprende intrones y exones), y una secuencia de ARNm o pre-ARNm que codifica DMPK. "ARNm de DMPK" significa un ARNm que codifica una proteína DMPK.

[0048] "Dosis" significa una cantidad especificada de un agente farmacéutico proporcionado en una única administración, o en un determinado período de tiempo. Se puede administrar una dosis en uno, dos o más bolos,

5 tabletas o inyecciones. Por ejemplo, cuando se desea la administración subcutánea, la dosis deseada requiere un volumen que no se acomoda fácilmente con una sola inyección, por lo tanto, se pueden usar dos o más inyecciones para lograr la dosis deseada. En ciertos casos, el agente farmacéutico se administra por infusión durante un período prolongado de tiempo o de forma continua. Las dosis se pueden indicar como la cantidad de agente farmacéutico por hora, día, semana o mes.

10 **[0049]** "Cantidad efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva" significa la cantidad de agente farmacéutico activo suficiente para efectuar un resultado fisiológico deseado en un individuo que necesita el agente. La cantidad efectiva puede variar entre los 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.

15 **[0050]** "totalmente complementario" o "100% complementario" significa cada nucleobase de una secuencia de nucleobase de un Cebador ácido nucleico tiene una nucleobase complementaria de una segunda secuencia de nucleobase de un segundo ácido nucleico. En ciertas realizaciones, un Cebador ácido nucleico es un compuesto antisentido y un ácido nucleico diana es un segundo ácido nucleico.

20 **[0051]** "Gapmer" significa un compuesto antisentido quimérico en donde una región interna tiene una pluralidad de nucleósidos que apoyan la escisión de RNasa H entre las regiones externas tiene 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 "segmento de separación" y las regiones externas pueden denominarse "segmentos de ala".

25 **[0052]** "Ampliado por espacio" significa un compuesto antisentido quimérico que tiene un segmento de espacio de 12 o más 2'-desoxirribonucleósidos contiguos colocados entre e inmediatamente adyacentes a segmentos de ala 5' y 3' que tienen de uno a seis nucleósidos.

30 **[0053]** "Hibridación" significa la hibridación de moléculas de ácido nucleico complementarias. En ciertas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico complementarias incluyen un compuesto antisentido y un ácido nucleico diana.

35 **[0054]** "La identificación de un animal con la distrofia miotónica de tipo 1" significa la identificación de un animal que ha sido diagnosticado con una distrofia miotónica, trastorno o afección tipo 1 o identificación de un animal predispuesto a desarrollar una distrofia miotónica, trastorno o afección tipo 1. Por ejemplo, los individuos con antecedentes familiares pueden estar predispuestos a la distrofia miotónica, trastorno o afección tipo 1. Dicha identificación se puede lograr mediante cualquier método, incluida la evaluación del historial médico de un individuo y las pruebas o evaluaciones clínicas estándar.

40 **[0055]** "Inmediatamente adyacente" significa que no hay elementos intermedios entre los elementos inmediatamente adyacentes.

[0056] "Individual" significa un ser humano o animal no humano seleccionado para el tratamiento o terapia.

[0057] El "enlace internucleosídico" se refiere al enlace químico entre nucleósidos.

45 **[0058]** "Nucleósidos unidos" significa nucleósidos adyacentes que están unidos o unidos entre sí por un internucleosídico de ligamiento.

50 **[0059]** "Falta de coincidencia" o "nucleobase no complementaria" se refiere al caso en que una nucleobase de un Cebador ácido nucleico no es capaz de aparearse con la correspondiente nucleobase de un segundo ácido nucleico o diana.

[0060] El "enlace internucleosídico modificado" se refiere a una sustitución o cualquier cambio de un enlace internucleosídico natural (es decir, un enlace internucleosídico fosfodiéster).

55 **[0061]** La "nucleobase modificada" se refiere a 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).

60 **[0062]** "Nucleótido modificado" significa un nucleótido que tiene, independientemente, un resto de azúcar modificado, modificado enlace internucleosídico o nucleobase modificada. Un "nucleósido modificado" significa un nucleósido que tiene, independientemente, un resto de azúcar modificado o una nucleobase modificada.

[0063] "Oligonucleótido modificado" significa un oligonucleótido que comprende al menos un nucleótido modificado.

65 **[0064]** "Azúcar modificado" se refiere a una sustitución o cambio de un azúcar natural.

- 5 [0065] "Motivo" significa que el patrón de regiones químicamente distintas en un compuesto antisentido.
- [0066] "Miotonía" significa una relajación anormalmente lenta de una muscular después de la contracción voluntaria o estimulación eléctrica.
- 10 [0067] "Ribonucleasa nuclear" significa una ribonucleasa encontrada en el núcleo. ribonucleasas nucleares incluyen, pero no se limitan a, la RNasa H incluyendo RNasa HI y RNasa H2, el Drosha RNasa de doble hebra y otras RNasas de doble hebra.
- [0068] "Enlace internucleosídico de origen natural" significa un enlace fosfodiéster 3' a 5'.
- [0069] "Resto de azúcar natural" significa un azúcar que se encuentra en el ADN (2'-H) o ARN (2'-OH).
- 15 [0070] "Ácido nucleico" se refiere a moléculas compuestas de nucleótidos monoméricos. Un ácido nucleico incluye ácidos ribonucleicos (ARN), ácidos desoxirribonucleicos (ADN), ácidos nucleicos monocatenarios, ácidos nucleicos bicatenarios, ácidos ribonucleicos interferentes pequeños (ARNip) y microARN (miARN). Un ácido nucleico también puede comprender una combinación de estos elementos en una sola molécula.
- 20 [0071] Nucleobase significa un resto heterocíclico capaz de emparejarse con una base de otro ácido nucleico.
- [0072] "Secuencia de nucleobases" significa el orden de nucleobases contiguas independientes de cualquier modificación de azúcar, ligamiento, o nucleobase.
- 25 [0073] "Nucleósidos" se refiere a una base nitrogenada unida a un azúcar.
- [0074] "Nucleósidos miméticos" incluye aquellas estructuras utilizadas para sustituir el azúcar o el azúcar y la base y no necesariamente la articulación en una o más posiciones de un compuesto oligomérico tal como por ejemplo miméticos de nucleósidos que tienen morfolino, ciclohexenilo, ciclohexilo, tetrahidropiraniolo, miméticos de azúcar biciclo o triciclo, por ejemplo, unidades de azúcar sin furanosa.
- 30 [0075] "Nucleótido" significa un nucleósido que tiene un grupo fosfato unido covalentemente a la porción de azúcar del nucleósido.
- [0076] El "nucleótido mimético" incluye aquellas estructuras usadas para reemplazar el nucleósido y el enlace en una o más posiciones de un compuesto oligomérico tal como por ejemplo ácidos nucleicos peptídicos o morfolinos (morfolinos unidos por -N (H)-(=O)-O- u otro enlace no fosfodiéster).
- 35 [0077] "Compuesto oligomérico" o "oligómero" significa un polímero de subunidades monoméricas con enlaces que es capaz de hibridarse con al menos una región de una molécula de ácido nucleico.
- 40 [0078] "Oligonucleótido" se refiere a un polímero de los nucleósidos ligados cada uno de los cuales pueden ser modificados o sin modificar, independientes uno de otro.
- [0079] "Administración parenteral" significa la administración a través de 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. La administración puede ser continua, crónica, corta o intermitente.
- 45 [0080] "Péptido" significa una molécula formada uniendo al menos dos aminoácidos por enlaces amida. Péptido se refiere a polipéptidos y proteínas.
- 50 [0081] "Composición farmacéutica" significa una mezcla de sustancias adecuadas para administrar a un individuo. Por ejemplo, una composición farmacéutica puede comprender uno o más agentes activos y una solución acuosa estéril.
- 55 [0082] "Sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales fisiológica y farmacéuticamente aceptables de compuestos antisentido, es decir, sales que retienen la actividad biológica deseada del oligonucleótido de los padres y no imparten indeseados efectos toxicológicos a los mismos.
- 60 [0083] "Enlace de fosforotioato" significa un enlace entre nucleósidos donde el enlace de fosfodiéster se modifica reemplazando uno de los átomos de oxígeno no puente con un átomo de azufre. Un enlace de fosforotioato es un enlace internucleosídico modificado.
- [0084] Por "porción" se entiende un número definido de nucleobases contiguas (es decir, unidas) de un ácido nucleico. En ciertas realizaciones, una porción es un número definido de nucleobases contiguas de un ácido nucleico diana. En ciertas realizaciones, una porción es un número definido de nucleobases contiguas de un compuesto antisentido.
- 65

[0085] "Reducción preferencial de CMP exp DMPK ARN" se refiere a una reducción preferencial de transcripciones de ARN de un alelo CMPexp DMPK en relación con transcripciones de ARN de un alelo DMPK normal.

5 **[0086]** "Prevenir" se refiere a retrasar o prevenir el inicio o desarrollo de una enfermedad, trastorno o afección durante un período de tiempo desde minutos hasta indefinidamente. Prevenir también significa reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección.

10 **[0087]** "Profármaco" significa un agente terapéutico que se prepara en una forma inactiva que se convierte en una forma activa dentro del cuerpo o las células del mismo por la acción de enzimas endógenas u otros productos químicos o condiciones.

15 **[0088]** "Efectos secundarios" significa respuestas fisiológicas atribuibles a un tratamiento distinto de los efectos deseados. En ciertos casos, los efectos secundarios incluyen reacciones en el lugar de inyección, anomalías en las pruebas de función hepática, anomalías en la función renal, toxicidad hepática, toxicidad renal, anormalidades en el sistema nervioso central, miopatías y malestar general. Por ejemplo, el aumento de los niveles de aminotransferasa en suero puede indicar toxicidad hepática o anormalidad de la función hepática. Por ejemplo, el aumento de la bilirrubina puede indicar toxicidad hepática o anormalidad de la función hepática.

20 **[0089]** "Oligonucleótido de cadena sencilla" significa un oligonucleótido que no se hibrida con una cadena complementaria.

25 **[0090]** "Específicamente hibridable" se refiere a un compuesto antisentido que tiene un grado suficiente de complementariedad entre un oligonucleótido antisentido y un ácido nucleico diana para inducir un efecto deseado, mientras que exhibe efectos mínimos o nulos en ácidos nucleicos no diana bajo condiciones en las que se desea la unión, es decir, en condiciones fisiológicas en el caso de ensayos *in vivo* y tratamientos terapéuticos.

[0091] "Spliceopatía" significa un cambio en el corte y empalme alternativo de uno o más ARN que conduce a la expresión de los productos de corte y empalme alterados en un tejido particular.

30 **[0092]** "Administración subcutánea" se refiere a la administración justo debajo de la piel.

[0093] El "sustituto del azúcar" se superpone con el término ligeramente más amplio "mimético de nucleósido", pero está destinado a indicar el reemplazo de la unidad de azúcar (anillo de furanosa) solamente. Los anillos de tetrahidropiraniolo proporcionados en el presente documento son ilustrativos de un ejemplo de un sustituto de azúcar en donde el grupo azúcar de furanosa se ha reemplazado con un sistema de anillo de tetrahidropiraniolo.

[0094] "Orientación" o "dirigido" significa el proceso de diseño y selección de un compuesto antisentido que se hibride específicamente con un ácido nucleico diana e inducir un efecto deseado.

40 **[0095]** El "ácido nucleico diana", el "ARN diana" y el "transcrito de ARN diana" se refieren a un ácido nucleico capaz de ser blanco de compuestos antisentido.

45 **[0096]** "Segmento diana" significa la secuencia de nucleótidos de un ácido nucleico diana a la que un compuesto antisentido está dirigido. "Sitio diana 5'" se refiere al nucleótido más 5' de un segmento diana. "Sitio diana 3'" se refiere al nucleótido más 3' de un segmento diana.

[0097] "Cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad de un agente que proporciona un beneficio terapéutico a un individuo.

50 **[0098]** "Tratar" se refiere a la administración de una composición farmacéutica para efectuar una alteración o mejora de una enfermedad, trastorno, o afección.

55 **[0099]** "Distrofia miotónica tipo 1" o "DM1" significa un trastorno autosómico dominante causado por la expansión de una repetición CTG no codificante en DMPK. Esta mutación conduce al dominio de ARN, un proceso en donde la expresión de ARN que contiene una repetición CUG expandida (CUGexp) induce disfunción celular. El tracto CUGexp interactúa con proteínas de unión a ARN y hace que la transcripción mutante se retenga en focos nucleares. La toxicidad de este ARN proviene del secuestro de proteínas de unión al ARN y la activación de las vías de señalización.

60 **[0100]** "Nucleótido no modificado" significa un nucleótido compuesto de nucleobases naturales, restos 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).

Ciertas instancias

65 **[0101]** Se describen aquí métodos, compuestos y composiciones para inhibir la expresión de DMPK.

[0102] También se describe en el presente documento un método para reducir la expresión de DMPK en un animal que comprende administrar al animal un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado dirigido a DMPK.

5 **[0103]** También se describe en el presente documento un método para reducir preferentemente el ARN CMPexp DMPK, reducir la miotonía o reducir la escleopatía en un animal que comprende administrar al animal un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado dirigido a DMPK, en donde el oligonucleótido modificado reduce preferentemente el ARN CMPexp DMPK, reduce la miotonía o reduce la spliceopatía en el animal.

10 **[0104]** También se describe en el presente documento un método para administrar un oligonucleótido antisentido para contrarrestar el dominio del ARN dirigiendo la escisión de las transcripciones patógenas.

15 **[0105]** También se describe aquí un método para reducir la spliceopatía de *Serca1*. En ciertos casos, los métodos descritos en este documento dan como resultado la inclusión en el exón 22. En ciertos casos, el empalme correctivo ocurre en los músculos tibial anterior, gastrocnemio y cuádriceps.

[0106] También se describe en el presente documento un método para reducir la spliceopatía de *m-Titin*. En ciertos casos, los métodos descritos en este documento dan como resultado la inclusión del exón 5. En ciertos casos, el empalme correctivo ocurre en los músculos tibial anterior, gastrocnemio y cuádriceps.

20 **[0107]** También se describe en el presente documento un método para reducir la spliceopatía de *Cln1*. En ciertos casos, los métodos descritos en este documento dan como resultado la inclusión del exón 7a. En ciertos casos, el empalme correctivo ocurre en los músculos tibial anterior, gastrocnemio y cuádriceps.

25 **[0108]** También se describe en el presente documento un método para reducir la spliceopatía de *Zasp*. En ciertos casos, los métodos descritos aquí dan como resultado la inclusión del exón 11. En ciertos casos, el empalme correctivo ocurre en los músculos tibial anterior, gastrocnemio y cuádriceps.

30 **[0109]** También se describe en el presente documento un método para tratar un animal con distrofia miotónica tipo 1 que comprende: a) identificar dicho animal con distrofia miotónica tipo 1, y b) administrar a dicho animal una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado dirigido a DMPK. En ciertos casos, la cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto administrado al animal reduce preferentemente el ARN de CUGexp DMPK, reduce la miotonía o reduce la escleopatía en el animal.

35 **[0110]** También se describe en el presente documento un método para lograr una reducción preferencial de ARN CMPexp DMPK, que incluye administrar al sujeto sospechoso de tener distrofia miotónica tipo 1 o tener un ARN CUGexp DMPK un oligonucleótido antisentido modificado complementario a una región no repetida de dicho CUGexp DMPK RNA. El oligonucleótido antisentido modificado, cuando se une a dicho CUGexp DMPK RNA, logra una reducción preferencial del CUGexp DMPK RNA.

40 **[0111]** También se describe en el presente documento un método para lograr una reducción preferencial de ARN CMPexp DMPK, que incluye seleccionar un sujeto que tiene distrofia miotónica tipo 1 o que tiene un ARN CUGexp DMPK y administrar a dicho sujeto un oligonucleótido antisentido modificado complementario a una región no repetida de dicho CUGexp DMPK RNA. El oligonucleótido antisentido modificado, cuando se une al ARN CUGexp DMPK, activa una ribonucleasa o ribonucleasa nuclear, logrando así una reducción preferencial del ARN CUGexp DMPK en el núcleo.

50 **[0112]** También se describe en el presente documento un método para lograr una reducción preferencial de ARN CMPexp DMPK, que incluye seleccionar un sujeto que tiene distrofia miotónica tipo 1 o que tiene un ARN mutante o CUGexp DMPK y administrar sistemáticamente a dicho sujeto un oligonucleótido antisentido modificado complementario a una región de no repetición de dicho CUGexp DMPK RNA. El oligonucleótido antisentido modificado, cuando se une al ARN mutante o CUGexp DMPK, logra una reducción preferencial del ARN mutante o CUGexp DMPK.

55 **[0113]** También se describe en el presente documento un método para reducir la miotonía en un sujeto que lo necesita. El método incluye administrar al sujeto un oligonucleótido antisentido modificado complementario a una región no repetida de un ARN DMPK, en donde el oligonucleótido antisentido modificado, cuando se une al ARN DMPK, activa una ribonucleasa o ribonucleasa nuclear, reduciendo así la miotonía. En ciertos casos, el sujeto tiene o se sospecha que tiene distrofia miotónica tipo 1 o que tiene un ARN DMPK mutante o ARN DMPK CUGexp. En ciertos casos, el ARN DMPK es retenido nuclearmente.

60 **[0114]** También se describe en el presente documento un método para reducir la escleopatía en un sujeto que lo necesite. El método incluye administrar al sujeto un oligonucleótido antisentido modificado complementario a una región no repetida de un ARN de DMPK, en donde el oligonucleótido antisentido modificado, cuando se une al ARN de DMPK, activa una ribonucleasa o ribonucleasa nuclear, reduciendo así la spliceopatía. En ciertos casos, el sujeto tiene o se sospecha que tiene distrofia miotónica tipo 1 o que tiene un ARN CUGexp DMPK retenido nuclearmente.

65 En ciertos casos, el ARN DMPK es nuclear retenido. En ciertos casos, la spliceopatía es spliceopatía dependiente de MBNL.

[0115] En ciertos casos, el oligonucleótido antisentido modificado de los métodos es quimérico. En ciertos casos, el oligonucleótido antisentido modificado de los métodos es un gapper.

5 **[0116]** En ciertos casos de los métodos descritos aquí, la administración es subcutánea. En ciertos casos, la administración es intravenosa.

10 **[0117]** En ciertos casos, el oligonucleótido antisentido modificado de los métodos se dirige a una secuencia no codificante dentro de la región no repetida de un ARN DMPK. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido se dirige a una región codificante, un intrón, un 5'UTR o un 3'UTR del ARN mutante DMPK.

[0118] En ciertos casos de los métodos descritos aquí, la ribonucleasa nuclear es RNasa HI.

15 **[0119]** En ciertos casos de los métodos, el ARN DMPK se reduce en el tejido muscular. En ciertas realizaciones, el ARN DMPK mutante CUGexp ARN DMPK se reduce preferentemente.

[0120] En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el N° de acceso de GenBank NM_001081560,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 1). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el N° de acceso de GenBank NT_011109,15 truncado de los nucleótidos 18540696 a 18555106 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 2). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el N° de acceso de GenBank NT_039413,7 truncado de los nucleótidos 16666001 a 16681000 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 3). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el número de acceso de GenBank NM_032418,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 4). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el N° de acceso de GenBank AI007148,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 5). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el número de acceso de GenBank AI304033,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 6). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el número de acceso de GenBank BC024150,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 7). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el número de acceso de GenBank BC056615,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 8). En ciertas realizaciones del documento, el DMPK tiene la secuencia establecida en el número de acceso de GenBank BC075715,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 793). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el N° de acceso de GenBank BU519245,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 794). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el número de acceso de GenBank CB247909,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 795). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el N° de acceso de GenBank CX208906,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 796). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el N° de acceso de GenBank CX732022,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 797). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el N° de acceso de GenBank S60315,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 798). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el N° de acceso de GenBank S60316,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 799). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia como se establece en el N° de acceso de GenBank NM_001081562,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 800). En ciertas realizaciones, el DMPK tiene la secuencia que se establece en el número de acceso GenBank NM_001100,3 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 801).

45 **[0121]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobase que comprende al menos 8 nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase enumerada en cualquiera de las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobase que comprende al menos 9, al menos 10, o al menos 11, nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase enumerada en cualquiera de las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774 -792.

50 **[0122]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobase que comprende al menos 12 nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase enumerada en cualquiera de las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobase que comprende al menos 13, o al menos 14, nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase enumerada en cualquiera de las SEQ ID No: 12-156, 160-770 y 774-792.

55 **[0123]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobase que comprende al menos 15 nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase enumerada en cualquiera de las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobase que comprende al menos 16, o al menos 17, nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase enumerada en cualquiera de las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792.

60 **[0124]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobase que comprende al menos 18 nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase enumerada en cualquiera de las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobase que comprende al menos 19 nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase mencionada en cualquiera de las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792.

65

[0125] En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos modificados proporcionados en el presente documento están dirigidos a cualquiera de las siguientes regiones de SEQ ID NO: 1: 1178-1206, 2159-2182, 2174-2196, 2426-2447, 2450-2518, 2679- 2704 y 2697-2725.

5 **[0126]** En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos modificados proporcionados en el presente documento están dirigidos a cualquiera de las siguientes regiones de SEQ ID NO 1: 178-223, 232-253, 279-299, 366-399, 519-541, 923-975, 1073-1105, 1171-1196, 1215-1246, 1263-1324, 1706-1734, 1743-1763, 1932-1979, 1981-2003, 2077-2108 y 2152-2173.

10 **[0127]** En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos modificados proporcionados aquí están dirigidos a cualquiera de los siguientes regiones de SEQ ID NO: 2: 1251-1303, 1305-1326, 1352-1372, 3762-3795, 4170-4192, 5800-5852, 6124-6149, 6168-6199, 6216-6277, 11979-12007, 12016- 12036, 12993-13042, 13044-13066, 13140-13171 y 13215-13236.

15 **[0128]** En ciertas realizaciones, el animal es un humano.

[0129] En ciertos casos, los compuestos o composiciones de la invención se designan como un Cebador agente y los métodos descritos aquí comprenden además administrar un segundo agente. En ciertos casos, el Cebador agente y el segundo agente se administran conjuntamente. En ciertos casos, el Cebador agente y el segundo agente se administran conjuntamente de forma secuencial o concomitante.

[0130] En ciertos casos, la administración comprende la administración parenteral.

25 **[0131]** En ciertas realizaciones, el compuesto es un oligonucleótido modificado monocatenario. En ciertos casos, la secuencia de nucleobase del oligonucleótido modificado es al menos 95% complementaria a cualquiera de las SEQ ID NO: 3-8 y 793-801, medida en la totalidad de dicho oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, la secuencia de nucleobase del oligonucleótido modificado es al menos un 95% complementaria a cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 medida en la totalidad de dicho oligonucleótido modificado. En ciertos casos, la secuencia de nucleobase del oligonucleótido modificado es 100% complementaria a cualquiera de las SEQ ID NO: 3-8 y 793-801, medida en la totalidad de dicho oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, la secuencia de nucleobase del oligonucleótido modificado es 100% complementaria a cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 medida en la totalidad de dicho oligonucleótido modificado.

35 **[0132]** En ciertas realizaciones, al menos un enlace internucleosídico de dicho oligonucleótido modificado es un enlace internucleósido modificado. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico es un enlace internucleósido de fosforotioato.

40 **[0133]** En ciertas realizaciones, al menos un nucleósido de dicho oligonucleótido modificado comprende un azúcar modificado. En ciertas realizaciones, al menos un azúcar modificado es un azúcar bicíclico. En ciertas realizaciones, al menos uno modificado de azúcar comprende un 2'-O-metoxietilo o un 4'-(CH₂)_n-O-2' puente, donde n es 1 o 2.

[0134] En ciertas realizaciones, al menos un nucleósido de dicho oligonucleótido modificado comprende un núcleo modificado 5 base. En ciertas realizaciones, la nucleobase modificada es una 5-metilcitosina.

45 **[0135]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado comprende: a) un segmento de separación que consiste en desoxinucleósidos unidos; b) un segmento de ala 5' que consiste en nucleósidos unidos; y c) un segmento de ala 3' que consiste en nucleósidos unidos. El segmento de separación se coloca entre el segmento del ala 5' y el segmento del ala 3' y cada nucleósido de cada segmento del ala comprende un azúcar modificado.

50 **[0136]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado comprende: a) un segmento de separación que consiste en diez desoxinucleósidos unidos; b) un segmento de ala 5' que consta de cinco nucleósidos unidos; y c) un segmento de ala 3' que consta de cinco nucleósidos unidos. El segmento de separación se coloca entre el segmento del ala 5' y el segmento del ala 3', cada nucleósido de cada segmento del ala comprende un azúcar 2'-O-metoxietilo, cada enlace internucleósido de dicho oligonucleótido modificado es un enlace de fosforotioato, y cada citosina en dicho oligonucleótido modificado es una 5'-metilcitosina.

[0137] En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado consta de 20 nucleósidos unidos.

60 **[0138]** También se describe en el presente documento un método para reducir preferentemente el ARN CMPexp DMPK, reducir la miotonía o reducir la escleropatía en un animal que comprende administrar al animal un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que tiene un segmento de separación que consta de diez desoxinucleósidos unidos, un segmento de ala 5' que consta de cinco nucleósidos unidos y un segmento de ala 3' que consta de cinco nucleósidos unidos. El segmento de separación se coloca entre el segmento del ala 5' y el segmento del ala 3', cada nucleósido de cada segmento del ala comprende un azúcar 2'-O-metoxietilo, cada enlace internucleósido de dicho oligonucleótido modificado es un enlace de fosforotioato, cada citosina en dicho oligonucleótido modificado es una 5'-metilcitosina.

65

5 **[0139]** También se describe en el presente documento el uso de cualquier compuesto como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para usar en cualquiera de los métodos terapéuticos descritos en el presente documento. Por ejemplo, se describe en el presente documento el uso de un compuesto como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para tratar, mejorar o prevenir la distrofia miotónica tipo 1. También se describe en el presente documento el uso de un compuesto como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para inhibir la expresión de DMPK y tratar, prevenir, retrasar o mejorar una enfermedad relacionada con DMPK y un síntoma del mismo. También se describe en el presente documento el uso de un compuesto como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para reducir la expresión de DMPK en un animal. También se describe en el presente documento el uso de un compuesto como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para reducir preferentemente CUGexp DMPK, reducir la miotonía o reducir la esleopatía en un animal. También se describe en el presente documento el uso de un compuesto como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para tratar un animal con distrofia miotónica de tipo 1. También se describe en el presente documento el uso de un compuesto como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para tratar, prevenir, retrasar o mejorar los síntomas y resultados asociados con el desarrollo de DM1, incluyendo rigidez muscular, miotonía, incapacidad de debilidad distal, debilidad en la cara y la mandíbula músculos, dificultad para tragar, caída de los párpados (ptosis), debilidad de los músculos del cuello, debilidad en los músculos de los brazos y las piernas, dolor muscular persistente, hipersomnia, desgaste muscular, disfagia, insuficiencia respiratoria, latidos cardíacos irregulares, daño del músculo cardíaco, apatía, insulina resistencia y cataratas. También se describe en el presente documento el uso de un compuesto como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para contrarrestar el dominio del ARN dirigiendo la escisión de las transcripciones patógenas.

25 **[0140]** También se describe en el presente documento un kit para tratar, prevenir o mejorar la distrofia miotónica de tipo 1 como se describe en el presente documento en donde el kit comprende: a) un compuesto como se describe en el presente documento; y opcionalmente b) un agente o terapia adicional como se describe en este documento. El kit puede incluir además instrucciones o una etiqueta para usar el kit para tratar, prevenir o mejorar la distrofia miotónica tipo 1.

30 **[0141]** También se describe en el presente documento cualquier compuesto o composición como se describe en el presente documento, para su uso en cualquiera de los métodos terapéuticos descritos en el presente documento. Por ejemplo, también se describe en el presente documento un compuesto o composición como se describe en el presente documento para inhibir la expresión de DMPK y tratar, prevenir, retrasar o mejorar una enfermedad relacionada con DMPK y un síntoma de la misma. También se describe en el presente documento un compuesto o composición como se describe en el presente documento para su uso en la reducción de la expresión de DMPK en un animal. También se describe en el presente documento un compuesto o composición como se describe en el presente documento para su uso en la reducción preferencial de CUGexp DMPK, reducción de la miotonía o reducción de la spliceopatía en un animal. También se describe en el presente documento un compuesto o composición como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento de un animal con distrofia miotónica tipo 1. También se describe en el presente documento un compuesto o composición como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento, prevención, retraso o mejora de los síntomas y resultados asociados con el desarrollo de DM1, incluyendo rigidez muscular, miotonía, incapacidad de debilidad distal, debilidad en los músculos de la cara y la mandíbula, dificultad para tragar, caída de los párpados (ptosis), debilidad de los músculos del cuello, debilidad en los músculos de los brazos y las piernas, dolor muscular persistente, hipersomnia, desgaste muscular, disfagia, insuficiencia respiratoria, latidos cardíacos irregulares, daño del músculo cardíaco, apatía, resistencia a la insulina y cataratas. También se describe en el presente documento un compuesto o composición como se describe en el presente documento para su uso en contrarrestar el dominio del ARN dirigiendo la escisión de los transcritos patógenos. También se describen en el presente documento compuestos que comprenden un oligonucleótido modificado que consiste en 12 a 30 nucleósidos unidos que tienen una secuencia de nucleobase que comprende al menos 12 nucleobases contiguas de cualquiera de las secuencias de nucleobase de SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792.

[0142] También se describen otros compuestos que pueden usarse en los métodos descritos en el presente documento.

55 **[0143]** Por ejemplo, también se describen en el presente documento compuestos que comprenden un oligonucleótido modificado que consiste en 10 a 80, 12 a 50, 12 a 30, 15 a 30, 18 a 24, 19 a 22 o 20 nucleósidos unidos que tienen una secuencia de nucleobase que comprende 5 al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, o al menos 19, nucleobases contiguas de cualquiera de las secuencias de nucleobase de SEQ ID NOs: 41, 44, 76, 109, 153, 320, 321, 322, 325, 329, 335, y 657.

65 **[0144]** También se describen en este documento compuestos que comprenden un oligonucleótido modificado que consta de 10 a 80, 12 a 50, 12 a 30, 15 a 30, 18 a 24, 19 a 22, o 20, nucleósidos enlaces teniendo una nucleobase secuencia que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, nucleobases contiguas de cualquiera de las secuencias de nucleobase de SEQ ID NO: 15, 73, 77, 79, 83, 85, 130, 602, 648, 655, 674 y 680.

5 **[0145]** También se describen en el presente documento compuestos que comprenden un oligonucleótido modificado que consiste en 10 a 80, 12 a 50, 12 a 30, 15 a 30, 18 a 24, 19 a 22 o 20, nucleósidos unidos que tienen una secuencia de nucleobase que comprende una porción de al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, o al menos 19, o más, nucleobases contiguas complementarias a una porción de igual longitud de nucleobases 664-683, 773-792, 926-945, 927-946, 928-947, 931-950, 935-954, 941-960, 2089-2108, 2163-2182, 2490-2509, 2499-2518, 2676-2695, 2685-2704, 2676-2695, 2688-2707, 2697-2716, 2764-2783, y 2770-2789 de SEQ ID NO: 1, en donde la secuencia de nucleobase es complementaria a la SEQ ID NO: 1.

10 **[0146]** También se describen en este documento compuestos que comprenden un oligonucleótido modificado que consiste en 10 a 80, 12 a 50, 12 a 30, 15 a 30, 18 a 24, 19 a 22 o 20, nucleósidos unidos que tienen una secuencia de nucleobase que comprende una porción de al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, o al menos 19, o más, nucleobases contiguas complementarias a una porción de igual longitud de nucleobases 812-831, 3629-3648, 4447-4466, 4613-4632, 5803-5822, 5804-5823, 5805-5824, 5808-5827, 5818-5837, 6794-6813, 12463-12482, 13152-13171 y 13553-13572 de SEQ ID NO: 2, en donde la secuencia de nucleobase es complementaria a SEQ ID NO: 2.

15 **[0147]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado es un oligonucleótido monocatenario.

20 **[0148]** En ciertos casos, la secuencia de nucleobase del oligonucleótido modificado es al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o 100%, complementario a cualquiera de las SEQ ID NO: 1-8 y 793-801.

25 **[0149]** En ciertas realizaciones, al menos un enlace internucleosídico es un enlace internucleósido modificado.

[0150] En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico es un enlace internucleósido de fosforotioato.

30 **[0151]** En ciertas realizaciones, al menos un nucleósido comprende un azúcar modificado.

[0152] En ciertas realizaciones, al menos un azúcar modificado es un azúcar bicíclico.

[0153] En ciertas realizaciones, al menos un azúcar modificado comprende un 2'-O-metoxietilo.

35 **[0154]** En ciertas realizaciones, al menos un nucleósido comprende una nucleobase modificada.

[0155] En ciertas realizaciones, la nucleobase modificada es una 5-metilcitosina.

40 **[0156]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado comprende:

un segmento de separación que consiste en desoxinucleósidos unidos;

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

45 un segmento de ala 3' que consiste en nucleósidos unidos;

en donde el segmento de separación se coloca 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.

50 **[0157]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado comprende:

un segmento de separación que consiste en diez desoxinucleósidos unidos;

un segmento de ala 5' que consta de cinco nucleósidos unidos; y

55 un segmento de ala 3' que consta de cinco nucleósidos unidos;

en donde el segmento de separación se coloca 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; y en donde cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato.

60 **[0158]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado consta de 14 nucleósidos unidos.

[0159] En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado consta de 16 nucleósidos unidos.

65 **[0160]** En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado consta de 20 nucleósidos unidos.

Compuestos antisentido

5 **[0161]** Los compuestos oligoméricos incluyen, pero no se limitan a, oligonucleótidos, oligonucleósidos, análogos de oligonucleótidos, miméticos de oligonucleótidos, compuestos antisentido, oligonucleótidos antisentido, y ARNs. Un compuesto oligomérico puede ser "antisentido" para un ácido nucleico diana, lo que significa que es capaz de experimentar hibridación con un ácido nucleico diana a través de enlaces de hidrógeno.

10 **[0162]** En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una secuencia de nucleobases que, cuando se escribe en el 5' a 3' dirección, comprende el complemento inverso del segmento diana de un ácido nucleico diana al que está dirigido. En ciertas realizaciones de este tipo, un oligonucleótido antisentido tiene una secuencia de nucleobase que, cuando se escribe en la dirección 5' a 3', comprende el complemento inverso del segmento diana de un ácido nucleico diana al que se dirige.

15 **[0163]** En ciertos casos, un compuesto antisentido dirigido a DMPK como se describe en el presente documento tiene una longitud de 10 a 30 nucleótidos. En otras palabras, los compuestos antisentido son de 10 a 30 nucleobases unidas. En otros casos, el compuesto antisentido comprende un oligonucleótido modificado que consta de 8 a 80, 10 a 80, 12 a 30, 12 a 50, 15 a 30, 18 a 24, 19 a 22 o 20 nucleobases unidas. En ciertos casos, el compuesto antisentido comprende un oligonucleótido modificado que consta de 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 nucleobases unidas en longitud, o un rango definido por cualquiera de los dos valores anteriores. En ciertos casos, los compuestos antisentido de cualquiera de estas longitudes contienen al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, o al menos 19, nucleobases contiguas de la secuencia de nucleobase de cualquiera de los compuestos antisentido ejemplares descritos en el presente documento (por ejemplo, al menos 8 nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase enumeradas en cualquiera de las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792).

30 **[0164]** En ciertas realizaciones, el compuesto antisentido comprende un oligonucleótido modificado acortado o truncado. El oligonucleótido modificado acortado o truncado puede tener un nucleósido único eliminado del extremo 5' (truncamiento 5'), o alternativamente desde el extremo 3' (truncamiento 3'). Un oligonucleótido acortado o truncado puede tener dos nucleósidos eliminados del extremo 5', o alternativamente puede tener dos subunidades eliminadas del extremo 3'. Alternativamente, los nucleósidos eliminados pueden ser dispersos por todo el oligonucleótido modificado, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene un nucleósido eliminado del extremo 5' y un nucleósido eliminado del extremo 3'.

35 **[0165]** Cuando un único nucleósido adicional está presente en un oligonucleótido alargado, el nucleósido adicional puede ubicarse en el extremo 5' o 3' del oligonucleótido. Cuando están presentes dos o más nucleósidos adicionales, los nucleósidos añadidos pueden estar adyacentes entre sí, por ejemplo, en un oligonucleótido que tiene dos nucleósidos añadidos al extremo 5' (adición 5'), o alternativamente al extremo 3' (3' Además), del oligonucleótido. Alternativamente, el nucleósido agregado puede dispersarse por todo el compuesto antisentido, por ejemplo, en un oligonucleótido que tiene un nucleósido agregado al extremo 5' y una subunidad agregada al extremo 3'.

45 **[0166]** Es posible aumentar o disminuir la longitud de un compuesto antisentido, tal como un oligonucleótido antisentido, y/o introducir bases de emparejamiento erróneo sin eliminar la actividad. Por ejemplo, en Woolf et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 89: 7305-7309, 1992), se probó una serie de oligonucleótidos antisentido de 13-25 nucleobases de longitud para determinar su capacidad para inducir la escisión de un ARN diana en un modelo de inyección de ovocitos. Los oligonucleótidos antisentido de 25 nucleobases de longitud con 8 u 11 bases de emparejamiento erróneo cerca de los extremos de los oligonucleótidos antisentido pudieron dirigir la escisión específica del ARNm diana, aunque en menor medida que los oligonucleótidos antisentido que no contenían emparejamientos erróneos. De manera similar, se logró la escisión específica del objetivo usando oligonucleótidos antisentido de 13 nucleobases, incluidos aquellos con 1 o 3 desajustes.

50 **[0167]** Gautschi et al (J. Natl. Cancer Inst. 93: 463-471, marzo de 2001) demostraron la capacidad de un oligonucleótido que tiene 100% de complementariedad con el ARNm de bcl-2 y que tiene 3 desajustes con el ARNm de bcl-xL para reducir la expresión de bcl-2 y bcl-xL *in vitro* e *in vivo*. Además, este oligonucleótido demostró una potente actividad antitumoral *in vivo*.

55 **[0168]** Maher y Dolnick (Nuc. Acid. Res. 16: 3341-3358, 1988) probaron una serie de oligonucleótidos antisentido de 14 nucleobases en tándem, y un oligonucleótido antisentido de 28 y 42 nucleobase compuesto por la secuencia de dos o tres de los tándem oligonucleótidos antisentido, respectivamente, por su capacidad para detener la traducción de DHFR humano en un ensayo de reticulocitos de conejo. Cada uno de los tres oligonucleótidos antisentido de 14 nucleobases solo fue capaz de inhibir la traducción, aunque a un nivel más modesto que los oligonucleótidos antisentido de 28 o 42 nucleobase.

65 *Motivos de compuestos antisentido*

[0169] En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico DMPK tienen subunidades modificadas químicamente dispuestas en patrones o motivos, para conferir a las propiedades de compuestos antisentido tales como una mayor actividad inhibitoria, mayor afinidad de unión para un ácido nucleico diana, o resistencia a la degradación por nucleasas *in vivo*.

[0170] Compuestos antisentido quiméricos contienen típicamente al menos una región modificada de modo que confieren un aumento en resistencia a la degradación por nucleasas, aumento de la captación celular, aumento de la afinidad de unión para el ácido nucleico diana, y/o actividad inhibitoria incrementada. Una segunda región de un compuesto antisentido quimérico puede servir opcionalmente como sustrato para la endonucleasa celular RNasa H, que escinde la cadena de ARN de un ARN:dúplex de ADN.

[0171] Los 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 soporta la escisión de RNasaH se coloca 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 generalmente sirve 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 restos de azúcar que comprenden cada región distinta. Los tipos de restos de azúcar que se usan para diferenciar las regiones de un gapmer pueden en algunas realizaciones incluir β -D-ribonucleósidos, β -D-desoxirribonucleósidos, nucleósidos modificados en 2' (tales nucleósidos modificados en 2' pueden incluir 2'-MOE, y 2'-O-CH₃, entre otros), y nucleósidos modificados con azúcar bicíclico (tales nucleósidos modificados con azúcar bicíclico pueden incluir aquellos que tienen un puente 4'-(CH₂)_n-O-2', donde $n = 1$ o $n = 2$). Preferiblemente, cada región distinta comprende restos de azúcar uniformes. El motivo ala-espacio-ala se describe con frecuencia como "X-Y-Z", donde "X" representa la longitud de la región del ala 5', "Y" representa la longitud de la región del espacio, y "Z" representa la longitud de los 3' región del ala. Como se usa en este documento, un separador descrito como "X-Y-Z" tiene una configuración tal que el segmento de separación se coloca inmediatamente adyacente a cada uno de los segmentos del ala 5' y el segmento del ala 3'. Por lo tanto, no existen nucleótidos intermedios entre el segmento de ala 5' y el segmento de separación, o el segmento de separación y el segmento de ala 3'. Cualquiera de los compuestos antisentido descritos en el presente documento puede tener un motivo gapmer. En algunas realizaciones, X y Z son iguales, en otras realizaciones son diferentes. En una realización preferida, Y tiene entre 8 y 15 nucleótidos. X, Y o Z pueden 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 nucleótidos. Por lo tanto, los gapmers incluyen, entre otros, por ejemplo 5-10-5, 4-8-4, 4-12-3, 4-12-4, 3-14-3, 2-1,3-5, 2-16-2, 1-18-1, 3-10-3, 2-10-2, 1-10-1, 2-8-2, 6-8-6, 5-8-5, 1-8-1 o 2-6-2.

[0172] En ciertas realizaciones, el compuesto antisentido como un motivo "wingmer", que tiene una configuración de hueco de ala o ala de hueco, es decir, una configuración X-Y o Y-Z como se describió anteriormente para la configuración de gapmer. Por lo tanto, las configuraciones de wingmer incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo 5-10, 8-4, 4-12, 12-4, 3-14, 16-2, 18-1, 10-3, 2-10, 1-10, 8-2, 2-13 o 5-13.

[0173] En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico DMPK poseen un motivo gapmer 5-10-5.

[0174] En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido dirigido a un ácido nucleico DMPK tiene un motivo ensanchado.

[0175] En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido de cualquiera de estos motivos gapmer o wingmer contienen al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, o al menos 19 nucleobases contiguas de la secuencia de nucleobase de cualquiera de los compuestos antisentido ejemplares descritos en este documento (por ejemplo, al menos 8 nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase enumeradas en cualquiera de las SEQ NO ID: 12-156, 160-770 y 774-792).

Ácidos nucleicos diana, regiones diana y secuencias de nucleótidos

[0176] Las secuencias de nucleótidos que codifican DMPK incluyen, sin limitación, las siguientes secuencias que se establecen en el GenBank N° de acceso NM_001081560,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 1), GenBank N° de acceso NT_011109,15 truncado de los nucleótidos 18540696 a 18555106 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 2), GenBank N° de acceso NT_039413,7 truncado de los nucleótidos 16666001 a 16681000 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 3), GenBank A N° de acceso NM_032418,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 4), GenBank N° de acceso AI007148,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 5), GenBank N° de acceso AI304033,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 6), GenBank N° de acceso BC024150,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 7), GenBank N° de acceso BC056615,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 8), GenBank N° de acceso BC075715,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 793), GenBank N° de acceso BU519245,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 794), GenBank N° de acceso CB247909,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 795), GenBank N° de acceso CX208906,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 796), GenBank N° de acceso CX732022,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 797), GenBank N°

de acceso S60315,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 798), GenBank N° de acceso S60316,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 799), GenBank N° de acceso NM_001081562,1 (incorporado aquí como SEQ ID NO: 800), y GenBank N° de acceso NM_001100,3 (incorporado aquí en SEQ ID NO: 801). Se entiende que la secuencia establecida en cada SEQ ID NO en los Ejemplos contenidos en este documento es independiente de cualquier modificación a un resto de azúcar, un enlace internucleosídico o una nucleobase. Como tal, los compuestos antisentido definidos por una SEQ ID NO pueden comprender, independientemente, una o más modificaciones a un resto de azúcar, un enlace internucleosídico o una nucleobase. Los compuestos antisentido descritos por Número Isis (Isis N°) indican una combinación de secuencia de nucleobase y motivo.

[0177] En ciertas realizaciones, una región diana es una región estructuralmente definida del ácido nucleico diana. Por ejemplo, una región diana puede abarcar un 3' UTR, un 5' UTR, un exón, un intrón, una unión exón/intrón, una región de codificación, una región de inicio de traducción, una región de terminación de traducción u otra región definida de ácido nucleico. Las regiones estructuralmente definidas para DMPK se pueden obtener mediante el número de acceso a partir de bases de datos de secuencias como NCBI. En ciertas realizaciones, una región diana puede abarcar la secuencia desde un sitio diana 5' de un segmento diana dentro de la región diana 5 a un sitio diana 3' de otro segmento diana dentro de la región diana.

[0178] La orientación incluye la determinación de al menos un segmento diana al que se hibrida un compuesto antisentido, de modo que se produce un efecto deseado. En ciertas realizaciones, el efecto deseado es una reducción en los niveles de ácido nucleico diana de ARNm. En ciertas realizaciones, el efecto deseado es la reducción de los niveles de proteína codificada por el ácido nucleico diana o un cambio fenotípico asociado con el ácido nucleico diana.

[0179] Una región diana puede contener uno o más segmentos diana. Múltiples segmentos diana dentro de una región diana pueden superponerse. Alternativamente, pueden no solaparse. En ciertas realizaciones, los segmentos diana dentro de una región diana están separados por no más de aproximadamente 300 nucleótidos. En ciertas realizaciones, los segmentos diana dentro de una región diana están separados por un número de nucleótidos que es, es, no es más que, no es más que aproximadamente, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 o 10 nucleótidos en el ácido nucleico diana, o es un rango definido por cualquiera de los dos valores anteriores. En ciertas realizaciones, los segmentos diana dentro de una región diana están separados por no más de, o no más de, aproximadamente 5 nucleótidos en el ácido nucleico diana. En ciertas realizaciones, los segmentos diana son contiguos. Se contemplan regiones diana definidas por un intervalo que tiene un ácido nucleico inicial que es cualquiera de los sitios diana 5' o sitios diana 3' enumerados aquí.

[0180] Segmentos diana adecuados pueden encontrarse dentro de una 5' UTR, una región codificante, una 3' UTR, un intrón, un exón, o un unión exón/intrón. Los segmentos diana que contienen un codón de inicio o un codón de parada también son segmentos diana adecuados. Un segmento diana adecuado puede excluir específicamente una determinada región estructuralmente definida, como el codón de inicio o el codón de detención.

[0181] La determinación de segmentos diana adecuados pueden incluir una comparación de la secuencia de un nucleico diana ácido a otras secuencias de todo el genoma. Por ejemplo, el algoritmo BLAST puede usarse para identificar regiones de similitud entre diferentes ácidos nucleicos. Esta comparación puede evitar la selección de secuencias de compuestos antisentido que pueden hibridarse de una manera no específica a secuencias distintas de un ácido nucleico diana seleccionado (es decir, secuencias no diana o no diana).

[0182] Puede haber variación en la actividad (por ejemplo, como se define por reducción porcentual de los niveles de ácido nucleico diana) de los compuestos antisentido dentro de una región diana activa. En ciertas realizaciones, las reducciones en los niveles de ARNm de DMPK son indicativas de inhibición de la expresión de la proteína DMPK. Las reducciones en los niveles de una proteína DMPK también son indicativas de inhibición de la expresión de ARNm diana. Además, los cambios fenotípicos, como la reducción de la miotonía o la reducción de la spliceopatía, pueden ser indicativos de la inhibición de la expresión de proteínas y/o ARNm de DMPK.

Hibridación

[0183] En algunos casos, la hibridación ocurre entre un compuesto antisentido descrito en este documento y un ácido nucleico DMPK. El mecanismo más común de hibridación implica la unión de hidrógeno (p. ej., Watson-Crick, Hoogsteen o unión de hidrógeno de Hoogsteen invertida) entre nucleobases complementarias de las moléculas de ácido nucleico.

[0184] La hibridación puede ocurrir en diferentes condiciones. Las condiciones estrictas dependen de la secuencia y se determinan por la naturaleza y composición de las moléculas de ácido nucleico a hibridar.

[0185] Los métodos para determinar si una secuencia es específicamente hibridable con un ácido nucleico diana son bien conocidos en la técnica (Sambrooke y Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ª Ed., 2001). En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido proporcionados en el presente documento son específicamente hibridables con un ácido nucleico DMPK.

Complementariedad

[0186] Un compuesto antisentido y un ácido nucleico diana son complementarios entre sí cuando un número suficiente de nucleobases del compuesto antisentido puede unirse por hidrógeno con las nucleobases correspondientes del ácido nucleico diana, de modo que se producirá un efecto deseado (por ejemplo, inhibición antisentido de un ácido nucleico diana, como un ácido nucleico DMPK).

[0187] Un compuesto antisentido puede hibridarse sobre uno o más segmentos de un ácido nucleico DMPK de tal manera que los segmentos intermedios o adyacentes no estén involucrados en el evento de hibridación (por ejemplo, una estructura de bucle, desajuste o estructura de horquilla).

[0188] En ciertos casos, los compuestos antisentido proporcionados en este documento, o una porción especificada de los mismos, son, o son al menos, 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% complementario a un ácido nucleico DMPK, una región diana, un segmento diana o una porción específica del mismo. En ciertos casos, los compuestos antisentido son al menos 70%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% complementario a un DMPK ácido nucleico, una región diana, segmento diana o una porción especificada del mismo, y contiene al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos al menos 16, al menos 17, al menos 18, o al menos 19, nucleobases contiguas de la secuencia de nucleobase de cualquiera de los compuestos antisentido ejemplares descritos en este documento (por ejemplo, al menos 8 nucleobases contiguas de una secuencia de nucleobase indicadas en cualquiera de las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792). El porcentaje de complementariedad de un compuesto antisentido con un ácido nucleico diana se puede determinar utilizando métodos de rutina, y se mide sobre la totalidad del compuesto antisentido.

[0189] Por ejemplo, un compuesto antisentido en donde 18 de 20 nucleobases del compuesto antisentido son complementarias a una región diana, y por lo tanto se hibridarían específicamente, representan el 90 por ciento de complementariedad. En este ejemplo, las nucleobases no complementarias restantes se pueden agrupar o intercalar con nucleobases complementarias y no necesitan ser contiguas entre sí o con nucleobases complementarias. Como tal, un compuesto antisentido que tiene 18 nucleobases de longitud que tiene 4 (cuatro) nucleobases no complementarias que están flanqueadas por dos regiones de completa complementariedad con el ácido nucleico diana tendría 77,8% de complementariedad global con el ácido nucleico diana. El porcentaje de complementariedad de un compuesto antisentido con una región de un ácido nucleico diana se puede determinar de forma rutinaria utilizando programas BLAST (herramientas básicas de búsqueda de alineación local) 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.), Utilizando la configuración predeterminada, que utiliza algoritmo de Smith y Waterman (Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482-489).

[0190] En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido proporcionados aquí, o porciones especificadas de los mismos, son completamente complementarios (es decir, 100% complementarios) a un ácido nucleico diana, o una porción especificada del mismo. Por ejemplo, el compuesto antisentido puede ser completamente complementario a un ácido nucleico DMPK, o una región diana, o un segmento diana o secuencia diana del mismo. Como se usa en el presente documento, "completamente complementario" significa que cada nucleobase de un compuesto antisentido es capaz de emparejar bases precisas con las nucleobases correspondientes de un ácido nucleico diana. Por ejemplo, un compuesto antisentido de 20 nucleobases es completamente complementario a una secuencia diana que tiene una longitud de 400 nucleobases, siempre que haya una porción correspondiente de 20 nucleobases del ácido nucleico diana que sea completamente complementaria al compuesto antisentido. Completamente complementario también puede usarse en referencia a una porción especificada del Cebador y/o el segundo ácido nucleico. Por ejemplo, una porción de 20 nucleobases de un compuesto antisentido de 30 nucleobases puede ser "completamente complementaria" a una secuencia diana que tiene una longitud de 400 nucleobases. La porción de 20 nucleobases del oligonucleótido de 30 nucleobases es completamente complementaria a la secuencia diana si la secuencia diana tiene una porción correspondiente de 20 nucleobases en donde cada nucleobase es complementaria a la porción de 20 nucleobases del compuesto antisentido. Al mismo tiempo, el compuesto antisentido completo de 30 nucleobases puede ser completamente complementario a la secuencia diana, dependiendo de si las 10 nucleobases restantes del compuesto antisentido también son complementarias a la secuencia diana.

[0191] La ubicación de una nucleobase no complementaria puede estar en el extremo 5' o en 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, unidas) o no contiguas. En una realización, una nucleobase no complementaria se encuentra en el segmento del ala de un oligonucleótido antisentido gapper.

[0192] En ciertos casos, los compuestos antisentido que son, o son de hasta 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 nucleobases de longitud comprenden no más de 4, no más de 3, no más de 2, o no más de 1 nucleobase(s) no

complementaria(s) con respecto a un ácido nucleico diana, tal como un ácido nucleico DMPK, o una porción especificada del mismo.

[0193] En ciertos casos, compuestos antisentido que son, o son hasta 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleobases de longitud comprenden no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2 o no más de 1 nucleobase(s) no complementaria(s) en relación con un ácido nucleico diana, tal como un ácido nucleico DMPK, o una porción especificada del mismo.

[0194] Los compuestos antisentido proporcionados en este documento también incluyen los que son complementarios a una porción de una diana de ácido nucleico. Como se usa en el presente documento, "porción" se refiere a un número definido de nucleobases contiguas (es decir, unidas) dentro de una región o segmento de un ácido nucleico diana. Una "porción" también puede referirse a un número definido de nucleobases contiguas de un compuesto antisentido. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de al menos una porción de 8 nucleobases de un segmento diana. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de al menos una porción de 10 nucleobases de un segmento diana. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son complementarios de al menos una porción de 15 nucleobases de un segmento diana. También se contemplan compuestos antisentido que son complementarios de al menos un 8, al menos un 9, al menos un 10, al menos un 11, al menos un 12, al menos un 13, al menos un 14, al menos un 15, al menos un 16, al menos un 17, al menos un 18, al menos un 19, al menos un 20, o más porciones de nucleobase de un segmento diana, o un rango definido por cualquiera de estos dos valores.

Identidad

[0195] Los compuestos antisentido proporcionados en el presente documento también pueden tener un porcentaje de identidad definido para una secuencia de nucleótidos particular, SEQ ID NO, o compuesto representado por un número Isis específico, o una porción del mismo. Como se usa en el presente documento, un compuesto antisentido es idéntico a la secuencia descrita en el presente documento si tiene la misma capacidad de emparejamiento de nucleobase. Por ejemplo, un ARN que contiene uracilo en lugar de timidina en una secuencia de ADN descrita se consideraría idéntico a la secuencia de ADN ya que tanto el uracilo como la timidina se emparejan con adenina. También se contemplan versiones acortadas y alargadas de los compuestos antisentido descritos en el presente documento, así como compuestos que tienen bases no idénticas con respecto a los compuestos antisentido proporcionados en el presente documento. Las bases no idénticas pueden ser adyacentes entre sí o 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 un emparejamiento de bases idéntico en relación con la secuencia con la que se compara.

[0196] En ciertos casos, los compuestos antisentido, o porciones de los mismos, son al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idénticos a uno o más de los compuestos antisentido ejemplares o SEQ ID NO, o una porción de los mismos, descritos aquí.

Modificaciones

[0197] Un nucleósido es una combinación base-azúcar. La porción de nucleobase (también conocida como base) del nucleósido es normalmente un resto de base heterocíclica. Los nucleótidos son nucleósidos que además incluyen un grupo fosfato unido covalentemente a la porción de azúcar del nucleósido. Para aquellos nucleósidos que incluyen un azúcar pentofuranosilo, el grupo fosfato puede unirse al resto 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 oligonucleotídica, los grupos fosfato se denominan comúnmente formando los enlaces internucleosídicos del oligonucleótido.

[0198] Las modificaciones a los compuestos antisentido abarcan sustituciones o cambios en enlaces internucleosídicos, restos de azúcar o nucleobases. Los compuestos antisentido modificados a menudo se prefieren las formas nativas debido a propiedades deseables tales como, por ejemplo, captación celular mejorada, afinidad mejorada por la diana de ácido nucleico, mayor estabilidad en presencia de nucleasas o mayor actividad inhibitoria.

[0199] Los nucleósidos modificados químicamente también pueden emplearse para aumentar la afinidad de unión de un oligonucleótido antisentido acortado o truncado por su ácido nucleico diana. En consecuencia, a menudo se pueden obtener resultados comparables con compuestos antisentido más cortos que tienen tales nucleósidos modificados químicamente.

Enlaces internucleosídicos modificados

[0200] El enlace internucleosido natural de ARN y ADN es un enlace fosfodiéster de 3' a 5'. Los compuestos antisentido que tienen uno o más enlaces internucleosídicos modificados, es decir, de origen no natural, a menudo se seleccionan sobre los compuestos antisentido que tienen enlaces internucleosídicos de origen natural debido a propiedades deseables tales como, por ejemplo, captación celular mejorada, afinidad mejorada por los ácidos nucleicos diana y

aumento de estabilidad en presencia de nucleasas.

[0201] 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 se limitan a, fosfodiésteres, fosfotriésteres, metilfosfonatos, fosforamido y fosforotioatos. Los métodos de preparación de enlaces que contienen fósforo y no fósforo son bien conocidos.

[0202] En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico DMPK 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.

Restos de azúcar modificados

[0203] Los compuestos antisentido descritos en este documento pueden contener opcionalmente uno o más nucleosidos en donde el grupo de azúcar ha sido modificado. Dichos nucleosidos modificados con azúcar pueden impartir mayor estabilidad de la nucleasa, mayor afinidad de unión o alguna otra propiedad biológica beneficiosa a los compuestos antisentido. En ciertas realizaciones, los nucleosidos comprenden restos de anillo de ribofuranosa químicamente modificados. Los ejemplos de anillos de ribofuranosa modificados químicamente incluyen, sin limitación, la adición de grupos sustituyentes (incluidos grupos sustituyentes 5' y 2', puente de átomos de anillo no geminal para formar ácidos nucleicos bicíclicos (BNA), reemplazo del átomo de oxígeno del anillo de ribosilo con S, N(R), o C(R₁)(R₂) (R, R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, C₁-C₁₂ alquilo o un grupo protector) y combinaciones de los mismos. Ejemplos de químicamente azúcares modificados incluyen 2'-F-5'-nucleosido sustituido con metilo (consulte la solicitud internacional PCT WO 2008/101157 publicada el 21/08/08 para otros nucleosidos 5', 2'-bis sustituidos descritos) o la sustitución del átomo de oxígeno del anillo ribosilo con S con sustitución adicional en la posición 2' (véase la solicitud de patente de EE.UU. publicada US2005-0130923, publicada el 16 de junio de 2005) o, alternativamente, la sustitución 5' de un BNA (véase la solicitud internacional PCT WO 2007/134181 publicada el 22/11/07 en donde LNA está sustituido con, por ejemplo, un grupo 5'-metilo o 5'-vinilo).

[0204] Ejemplos de grupos de nucleosidos que tienen restos de azúcar modificados incluyen, sin limitación, nucleosidos que comprenden grupos de sustituyentes 5'-vinilo, 5'-metilo (R o S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH₃, 2'-OCH₂CH₃, 2'-OCH₂CH₂F y 2'-O(CH₂)₂OCH₃. El sustituyente en la posición 2' también se puede seleccionar de alilo, amino, azido, tio, O-alilo, O-C₁-C₁₀ alquilo, OCF₃, OCH₂F, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂ON (R_m)(R_n), O-CH₂-C(=O)-N (R_m)(R_n), y O-CH₂-C(=O)-N (R₁)-(CH₂)₂-N (R_m)(R_n), donde cada R₁, R_m y R_n es, independientemente, H o C₁-C₁₀ alquilo sustituido o no sustituido.

[0205] Los ejemplos de ácidos nucleicos bicíclicos (BNA) incluyen, sin limitación, nucleosidos que comprenden un puente entre los átomos del anillo ribosilo 4' y 2'. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido proporcionados en el presente documento incluyen uno o más nucleosidos de BNA en los que el puente comprende una de las fórmulas: 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' y 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (y análogos de los mismos, véase la Patente de los Estados Unidos 7,399,845, emitida el 15 de julio de 2008); 4'-(CH₃)-O-2' (y análogos de los mismos ver PCT/US2008/068922 publicada como WO/2009/006478, publicado el 8 de enero 2009); 4'-H₂-N(OCH₃)-2' (y análogos de los mismos ver PCT/US2008/064591 publicada como WO/2008/150729, publicada el 11 de diciembre de 2008); 4'-H₂-ON (CH₃)-2' (véase la Solicitud de Patente de Estados Unidos US2004-0171570, publicada C₂ septiembre del 2004); 4'-H₂-N(R)-O-2', en donde R es H, C₁-C₁₂ alquilo, o un grupo protector (véase la patente US 7,427,672, emitida el 23 de septiembre de 2008); 4'-H₂(H) (CH₃)-2' (ver Chattopadhyaya et al, J. Org Chem, 2009, 74, 118-134); y 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (y análogos de los mismos ver PCT/US2008/066154 publicada como WO 2008/154401, publicado el 8 diciembre de 2008).

[0206] Otros nucleosidos bicíclicos que han sido reportados en la literatura publicada (véase, por ejemplo: Srivastava et al, J. Am Chem Soc, 2007, 129 (26) 8,362-8,379; Frieden et al, Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372; Elayadi et al., Curr. Opinion Inven. Drugs, 2001, 2, 558-561; BraasCHet al., Chem. Biol., 2001, 8, 1-7; Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243; Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 2000, 97, 5633-5638; Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; Patentes de EE.UU. Nos.: 7,399,845; 7,053,207; 7,034,133; 6,794,499; 6,770,748; 6,670,461; 6,525,191; 6,268,490; Publicaciones de Patentes de EE.UU. N^{os}: US2008-0039618; US2007-0287831; US2004-0171570; Solicitudes de patentes de EE.UU., Números de serie: 12/129,154; 61/099,844; 61/097,787; 61/086,231; 61/056,564; 61/026,998; 61/026,995; 60/989,574; Solicitudes internacionales WO 2007/134181; WO 2005/021570; WO 2004/106356; WO 94/14226; y Solicitudes Internacionales PCT N^{os}: PCT/US2008/068922; PCT/US2008/066154; y PCT/US2008/064591). Cada uno de los nucleosidos bicíclicos anteriores se puede preparar con una o más configuraciones de azúcar estereoquímicas que incluyen, por ejemplo, β-1-ribofuranosa y β-D-ribofuranosa (véase la solicitud internacional PCT PCT/DK98/00393, publicada el 25 de marzo de 1999 como WO 99/14226).

[0207] En ciertas realizaciones, los nucleosidos bicíclicos comprenden un puente entre los átomos de carbono 4' y 2'

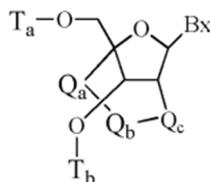
del resto de azúcar pentofuranosilo que incluye, sin limitación, puentes que comprenden 1 o de 1 a 4 grupos unidos seleccionados independientemente de $-[C(R_a)(R_b)]_n^-$, $-C(R_a) = C(R_b)-$, $-C(R_a)=N-$, $-C(=NR^a)-$, $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-O-$, $-Si(R_a)_2-$, $-S(=O)_x-$, y $-N(R_a)-$; en donde: 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, C_1-C_{12} alquilo, C_1-C_{12} alquilo sustituido, C_2-C_{12} alquenilo, C_2-C_{12} alquenilo sustituido, C_2-C_{12} alquinilo, C_2-C_{12} alquinilo sustituido, C_5-C_{20} arilo, C_5-C_{20} arilo sustituido, heterociclo radical, heterociclo radical sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, C_5-C_7 radical alicíclico, C_5-C_7 alicíclico radical sustituido, halógeno, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $COOJ_1$, acilo ($C(=O)-H$), acilo sustituido, CN, sulfonilo ($S(=O)_2-J_1$) o sulfoxilo ($S(=O)-J_1$); y cada J_1 y J_2 es, independientemente, H, C_1-C_{12} alquilo, C_1-C_{12} alquilo sustituido, C_2-C_{12} alquenilo, C_2-C_{12} alquenilo sustituido, C_2-C_{12} alquinilo, C_2-C_{12} alquinilo sustituido, C_5-C_{20} arilo, C_5-C_{20} arilo sustituido, acilo ($C(=O)-H$), acilo sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, C_1-C_{12} aminoalquilo, C_1-C_{12} sustituido aminoalquilo o una protección de grupo.

[0208] En ciertas realizaciones, el puente de un resto 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 $-C(R_aR_b)-ON(R)-$. En ciertas realizaciones, el puente es $4'-CH_2-2'$, $4'-(CH_2)_2-2'$, $4'-(CH_2)_3-2'$, $4'-CH_2-O-2'$, $4'-(CH_2)_2-O-2'$, $4'-CH_2-O-N(R)-2'$ y $4'-CH_2-N(R)-O-2'$ en donde cada R es, independientemente, H, un protector de grupo o C_1-C_{12} alquilo.

[0209] En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos se definen adicionalmente por configuración isomérica. Por ejemplo, un nucleósido que comprende un puente $4'-(CH_2)-O-2'$, puede estar en la configuración $\alpha-L$ en la configuración $\beta-D$. Anteriormente, $\alpha-L$ -metilenoxi ($4'-CH_2-O-2'$) BNA han sido incorporados en oligonucleótidos antisentido que mostraban actividad antisentido (Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372).

[0210] En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos incluyen aquellos que tienen un puente de $4'$ a $2'$ en donde dichos puentes incluyen, sin limitación, $\alpha-1-4'-(CH_2)-O-2'$, $\beta-D-4'-CH_2-O-2'$, $4'-(CH_2)_2-O-2'$, $4'-CH_2-O-N(R)-2'$, $4'-CH_2-N(R)-O-2'$, $4'-CH(CH_3)-O-2'$, $4'-CH_2-S-2'$, $4'-CH_2-N(R)-2'$, $4'-CH_2-H(CH_3)-2'$, y $4'-(CH_2)_3-2'$, en donde R es H, un grupo protector o C_1-C_{12} alquilo.

[0211] En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos tienen la fórmula:



en donde:

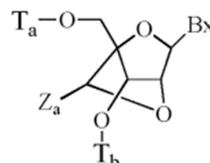
Bx es un resto de base heterocíclico;

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

R_c es C_1-C_{12} alquilo 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, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte.

[0212] En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos tienen la fórmula:



en donde:

Bx es un resto de base heterocíclico;

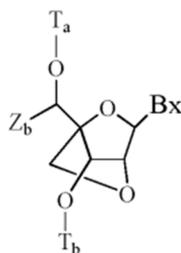
T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

Z_a es C_1-C_6 alquilo, C_2-C_6 alquenilo, C_2-C_6 alquinilo, C_1-C_6 alquilo sustituido, C_2-C_6 alquenilo sustituido, C_2-C_6 alquinilo sustituido, acilo, acilo sustituido, amida sustituida, tiol o tiol sustituido.

[0213] En una realización, cada uno de los grupos sustituidos es, 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 $NJ_cC(=X)NJ_cJ_d$, 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 .

[0214] En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos tienen la fórmula:

5



10

en donde:

15

Bx es un resto de base heterocíclico;

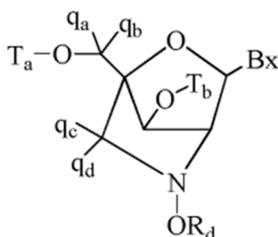
Ta y Tb son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

20

Zb es C₁-C₆ alquilo, C₂-C₆ alquenilo, C₂-C₆ alquinilo, C₁-C₆ alquilo sustituido, C₂-C₆ alquenilo sustituido, C₂-C₆ alquinilo sustituido o acilo sustituido (C(=O)-).

[0215] En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos tienen la fórmula:

25



30

en donde:

35

Bx es un resto de base heterocíclico;

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

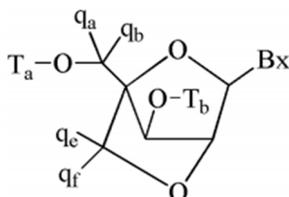
40

Rd es C₁-C₆ alquilo, C₁-C₆ alquilo sustituido, C₂-C₆ alquenilo, C₂-C₆ alquenilo sustituido, C₂-C₆ alquinilo o C₂-C₆ alquinilo sustituido;

cada qa, qb, qc y qd es, independientemente, H, halógeno, C₁-C₆ alquilo, C₁-C₆ alquilo sustituido, C₂-C₆ alquenilo, C₂-C₆ alquenilo sustituido, C₂-C₆ alquinilo o C₂-C₆ alquinilo sustituido, C₁-C₆ alcoxi, C₁-C₆ alcoxi sustituido, acilo, sustituido acilo, C₁-C₆ aminoalquilo o C₁-C₆ aminoalquilo sustituido;

[0216] En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos tienen la fórmula:

50



55

en donde:

60

Bx es un resto de base heterocíclico;

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

65

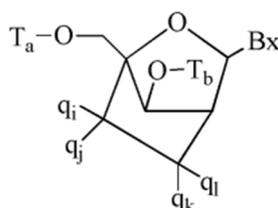
qa, qb, qc y qf son cada uno, independientemente, hidrógeno, halógeno, C₁-C₁₂ alquilo, C₁-C₁₂ alquilo sustituido, C₂-C₁₂ alquenilo, C₂-C₁₂ alquenilo sustituido, C₂-C₁₂ alquinilo, C₂-C₁₂ alquinilo sustituido, C₁-C₁₂ alcoxi, C₁-C₁₂ alcoxi sustituido, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO₂J_j, NJ_jJ_k, N₃, CN, C(=O)OJ_j, C(=O)NJ_jJ_k, C(=O)J_j, OC(=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 qe y qf juntos son = C(qg) (qh); qg y qh son cada uno, independientemente, H, halógeno, C₁-C₁₂ alquilo o C₁-C₁₂ alquilo sustituido.

[0217] La síntesis y preparación de adenina, citosina, guanina, 5-metil-citosina, timina y uracilo nucleósidos bicíclicos que tienen un puente 4'-CH₂-O-2', junto con su oligomerización, y propiedades de reconocimiento del ácido nucleico se han descrito (Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630). La síntesis de nucleósidos bicíclicos también se ha descrito en los documentos WO 98/39352 y WO 99/14226.

[0218] También se han preparado análogos de varios nucleósidos bicíclicos que tienen grupos puente de 4' a 2' tales como 4'-CH₂-O-2' y 4'-CH₂-S-2' (Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222). También se ha descrito la preparación de dúplex de oligodesoxirribonucleótidos que comprenden nucleósidos bicíclicos para usar como sustratos para polimerasas de ácido nucleico (Wengel et al., WO 99/14226). Además, la síntesis de 2'-amino-BNA, un novedoso análogo de oligonucleótido de alta afinidad restringido conformacionalmente se ha descrito en la técnica (Singh y col., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039). Además, se han preparado 2'-amino- y 2'-metilamino-BNA y se ha informado previamente sobre la estabilidad térmica de sus dúplex con hebras complementarias de ARN y ADN.

[0219] En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos tienen la fórmula:



en donde:

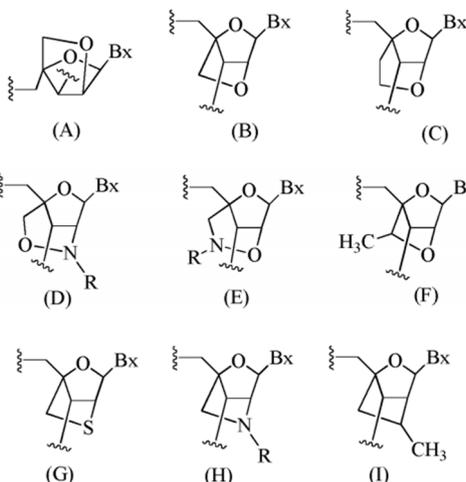
Bx es un resto de base heterocíclico;

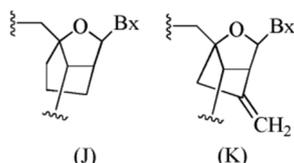
T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

cada q_i, q_j, q_k y q_l es, independientemente, H, halógeno, C₁-C₁₂ alquilo, C₁-C₁₂ alquilo sustituido, C₂-C₁₂ alqueno, C₂-C₁₂ alqueno sustituido, C₂-C₁₂ alquino, C₂-C₁₂ alquino sustituido, C₁-C₁₂ alcoxilo, C₁-C₁₂ alcoxilo sustituido, O_j, S_j, SO_j, SO₂_j, N_jJ_k, N₃, CN, C(=O)O_j, C(=O)N_jJ_k, C(=O)J_j, OC(=O)N_jJ_k, N(H)C(=NH)N_jJ_k, N(H)C(=O)N_jJ_k o N(H)C(=S)N_jJ_k; y q_i y q_j o q_i y q_k juntos son = C(q_g)(q_h), en donde q_g y q_h son cada uno, independientemente, H, halógeno, C₁-C₁₂ alquilo o C₁-C₁₂ alquilo sustituido.

[0220] Se ha descrito un nucleósido bicíclico carbocíclico que tiene un puente 4'-(CH₂)₃-2' y el puente análogo alqueno 4'-CH=CH-CH₂-2' (Frier 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 carbocíclicos bicíclicos junto con su oligomerización y estudios bioquímicos (Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc. 2007, 129 (26), 8362-8379).

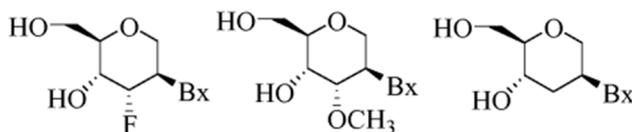
[0221] En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos que incluyen, pero no se limitan a, (A) α-L-metilenoxi (4'-CH₂-O-2') BNA, (B) β-D-metilenoxi (4'-H₂-O-2') BNA, (C) etilenoexi (4'-(CH₂)₂-O-2') BNA, (D) aminoexi (4'-H₂-O-N(R)-2') BNA, (E) oxiamino (4'-H₂-N(R)-O-2') BNA, (F) metil (metilenoexi) (4'-H(CH₃)-O-2') BNA (también denominado como acetato de constreñido o CET), (G) de metileno-tio (4'-CH₂-S-2') BNA, (H) metileno-amino (4'-CH₂-N(R)-2') BNA, (I) metil carbocíclico (4'-H₂-H(CH₃)-2') BNA, (J) propileno carbocíclico (4'-(CH₂)₃-2') BNA y (K) vinilo BNA como se muestra a continuación.



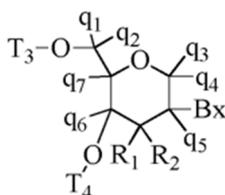


en donde Bx es el resto de base y R es, independientemente, H, un grupo protector, C₁-C₆ alquilo o C₁-C₆ alcoxi.

[0222] En ciertas realizaciones, los nucleósidos se modifican mediante la sustitución del anillo de ribosilo con un sustituto de azúcar. Dicha modificación incluye, sin limitación, el reemplazo del anillo de ribosilo con un sistema de anillo sustituto (a veces denominado análogos de ADN) como un anillo de morfolino, un anillo de ciclohexenilo, un anillo de ciclohexilo o un anillo de tetrahidropirano como uno que tiene una de las fórmulas:



[0223] En ciertas realizaciones, los sustitutos de azúcar se seleccionan con la fórmula:



en donde:

Bx es un resto de base heterocíclico;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de enlace internucleosídico que une el análogo de nucleósido de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de enlace internucleosídico que une el análogo de nucleósido de tetrahidropirano a un compuesto u oligonucleótido oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

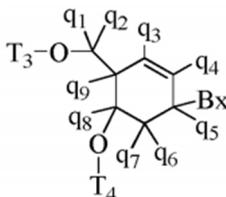
q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno independientemente, H, C₁-C₆ alquilo, C₁-C₆ alquilo sustituido, C₂-C₆ alqueno, sustituido C₂-C₆ alqueno, C₂-C₆ alquino o C₂-C₆ alquino sustituido; y uno de R₁ y R₂ es hidrógeno y el otro se selecciona de halógeno, alcoxi sustituido o no sustituido, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X) J₁, OC(=X) NJ₁J₂, NJ 3 C(=X) NJ₁J₂ y CN, en donde X es O, S o NJ 1 y cada J₁, J 2 y J 3 es, independientemente, H o alquilo C₁-6.

[0224] En ciertas realizaciones, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada una H. En ciertas realizaciones, al menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es diferente de H. En ciertas realizaciones, al menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es metilo. En ciertas realizaciones, los nucleósidos de THP se proporcionan en donde uno de R₁ y R₂ es F. En algunas realizaciones, R₁ es fluoro y R₂ es H; R₁ es metoxi y R₂ es H, y R₁ es metoxietoxi y R₂ es H.

[0225] Tales sustitutos de azúcar incluyen, pero no se limitan a, lo que se conoce en la técnica como ácido nucleico de hexitol (HNA), ácido nucleico de alritrol (ANA) y ácido nucleico de manitol (MnA) (véase Leumann, CJ, Bioorg. y Med. Chem., 2002, 10, 841-854).

[0226] 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, entre otros, los descritos en la técnica (véase, por ejemplo, la solicitud PCT publicada de propiedad común WO 2010/036696, publicada el 10 de abril de 2010, Robeyns et al., J. Am. Chem. Soc., 2008, 130 (6), 1979-1984; Horváth et al., Tetrahedron Letters, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129 (30), 9340-9348; Gu et al., Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2005, 24 (5-7), 993-998; 5 Nauwelaerts et al., Nucleic Acids Research, 2005, 33 (8), 2452-2463; Robeyns et al., Acta Crystallographica, Sección 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 y col., J. Am. Chem., 2000, 122, 8595-8602; Solicitud PCT publicada, WO 06/047842; y Solicitud PCT

publicada WO 01/049687). Ciertos nucleósidos de ciclohexenilo modificados tienen la fórmula:



en donde:

Bx es un resto de base heterocíclico;

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

[0227] También se conocen muchos otros sistemas de anillos sustitutos de azúcar bicíclicos y tricíclicos en la técnica que pueden usarse para modificar nucleósidos para su incorporación en compuestos antisentido (véase, por ejemplo, el artículo de revisión: Leumann, Christian J., *Bioorg. Y Med. Chem.*, 2002, 10, 841-854). Dichos sistemas de anillo pueden sufrir varias sustituciones adicionales para mejorar la actividad.

[0228] Los métodos para la preparación de azúcares modificados son bien conocidos por los expertos en la materia. Algunas patentes representativas de EE.UU. que enseñan la preparación de dichos azúcares modificados incluyen, entre otras, las US: 4,981,957; 5,118,800; 5,319,080; 5,359,044; 5,393,878; 5,446,137; 5,466,786; 5,514,785; 5,519,134; 5,567,811; 5,576,427; 5,591,722; 5,597,909; 5,610,300; 5,627,053; 5,639,873; 5,646,265; 5,670,633; 5,700,920; 5,792,847 y 6,600,032 y la Solicitud internacional PCT/US2005/019219, presentada el 2 de junio de 2005 y publicada como WO 2005/121371 el 22 de diciembre de 2005.

[0229] En los nucleótidos que tienen restos de azúcar modificados, los restos de nucleobase (naturales, modificados o una combinación de los mismos) se mantienen para la hibridación con una diana de ácido nucleico apropiada.

[0230] En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico DMPK comprenden uno o más nucleótidos que tienen restos de azúcar modificados. En ciertas realizaciones, el resto de azúcar modificado es 2'-MOE. En ciertas realizaciones, los nucleótidos modificados con 2'-MOE están dispuestos en un motivo gapper.

Nucleobases modificadas

[0231] 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 tales como, por ejemplo, 5-metilcitosina (5-me-C). Ciertas sustituciones de nucleobase, incluidas las sustituciones de 5-metilcitosina, son particularmente útiles para aumentar la afinidad de unión de un compuesto antisentido por un ácido nucleico diana. Por ejemplo, se ha demostrado que las sustituciones de 5-metilcitosina aumentan la estabilidad del dúplex de ácido nucleico en 0,6-1,2°C (Sanghvi, YS, Crooke, ST y Lebleu, B., eds., *Antisense Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278).

[0232] nucleobases no modificadas adicionales incluyen 5-hidroximetil citosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-metil y otros derivados de alquilo de adenina y guanina, 2-propil y otros derivados alquilo de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2-tiocitosina, 5-halouracilo y citosina, 5-propinil (α C-H₃) uracilo y derivados de citosina y otra alquinilo de bases pirimidínicas, 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.

[0233] Los restos de base heterocíclica también pueden incluir aquellos en los 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, que incluyen 2 aminopropiladenina, 5-

propiniluracilo y 5-propinilocitosina.

5 **[0234]** En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico DMPK comprenden una o más nucleobases modificadas. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos antisentido ensanchados dirigidos a un ácido nucleico DMPK comprenden una o más nucleobases modificadas. En ciertas realizaciones, la nucleobase modificada es 5-metilcitosina. En ciertas realizaciones, cada citosina es una 5-metilcitosina.

Composiciones y métodos para formular composiciones farmacéuticas

10 **[0235]** Los oligonucleótidos antisentido pueden mezclarse con una sustancia activa o inerte farmacéuticamente aceptable para la preparación de composiciones o formulaciones farmacéuticas. Las composiciones y los métodos para la formulación de composiciones farmacéuticas dependen de una serie de criterios, que incluyen, entre otros, la vía de administración, el alcance de la enfermedad o la dosis a administrar.

15 **[0236]** El compuesto antisentido dirigido a un ácido nucleico DMPK se puede utilizar en composiciones farmacéuticas combinando el compuesto antisentido con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado. Un diluyente farmacéuticamente aceptable incluye solución salina tamponada con fosfato (PBS). PBS es un diluyente adecuado para su uso en composiciones que se administrarán por vía parenteral. Por consiguiente, en un caso, se emplea en los métodos descritos en el presente documento una composición farmacéutica que comprende un compuesto antisentido dirigido a un ácido nucleico DMPK y un diluyente farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, el diluyente farmacéuticamente aceptable es PBS. En realizaciones de la invención, el compuesto antisentido es un oligonucleótido antisentido.

25 **[0237]** Las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos antisentido abarcan cualquier sal farmacéuticamente aceptable, ésteres o sales de tales ésteres, o cualquier otro oligonucleótido que, tras la administración a un animal, incluido un humano, sea capaz de proporcionar (directa o indirectamente) el metabolito biológicamente activo o residuo del mismo. Por consiguiente, por ejemplo, la divulgación también se refiere a sales farmacéuticamente aceptables de compuestos antisentido, profármacos, sales farmacéuticamente aceptables de dichos profármacos y otros bioequivalentes. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, pero no se limitan a, sales de sodio y potasio.

30 **[0238]** Un profármaco puede incluir la incorporación de nucleósidos adicionales en uno o ambos extremos de un compuesto antisentido que se escinden por nucleasas endógenas dentro del cuerpo, para formar el compuesto antisentido activo.

Compuestos antisentido conjugados

35 **[0239]** Los compuestos antisentido pueden ser unidos covalentemente a uno o más restos o conjugados que potencian la actividad, la distribución celular o la captación celular de los oligonucleótidos antisentido resultantes. Los grupos conjugados típicos incluyen restos de colesterol y restos de lípidos. Grupos conjugados adicionales incluyen carbohidratos, fosfolípidos, biotina, fenazina, ácido fólico, fenantridina, antraquinona, acridina, fluorosceínas, rodaminas, cumarinas y colorantes.

40 **[0240]** Los compuestos antisentido también pueden modificarse para tener uno o más grupos estabilizadores que generalmente están unidos a uno o ambos extremos de compuestos antisentido para mejorar propiedades tales como, por ejemplo, la estabilidad de la nucleasa. Se incluyen en los grupos estabilizadores las estructuras de tapa. Estas modificaciones terminales protegen el compuesto antisentido que tiene ácido nucleico terminal de la degradación de exonucleasa, y pueden ayudar en el suministro y/o localización dentro de una célula. La tapa puede estar presente en el extremo 5' (5' tapa), o en el extremo 3' (3' tapa), o puede estar presente en ambos extremos. Las estructuras de tapa son bien conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, tapas invertidas de desoxi abásicas. Otros grupos estabilizadores 3' y 5' que pueden usarse para tapar uno o ambos extremos de un compuesto antisentido para impartir estabilidad nucleasa incluyen los descritos en el documento WO 03/004602 publicado el 16 de enero de 2003.

Cultivo celular y tratamiento de compuestos antisentido

55 **[0241]** Los efectos de los compuestos antisentido sobre el nivel, la actividad o la expresión de los ácidos nucleicos DMPK se pueden probar in vitro en una variedad de tipos de células. Los tipos de células utilizados para tales análisis están disponibles en proveedores comerciales (por ejemplo, American Type Culture Collection, Manassus, VA; Zen-Bio, Inc., Research Triangle Park, NC; Clonetics Corporation, Walkersville, MD) y las células se cultivan de acuerdo con el proveedor. instrucciones utilizando reactivos disponibles en el mercado (por ejemplo, Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA). Los tipos de células ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, células HepG2, células Hep3B, hepatocitos primarios, células A549, fibroblastos GM04281 y células LLC-MK2.

Pruebas in vitro de oligonucleótidos antisentido

65 **[0242]** Aquí se describen métodos para el tratamiento de células con oligonucleótidos antisentido, que pueden

modificarse apropiadamente para el tratamiento con otros compuestos antisentido.

[0243] En general, las células se tratan con oligonucleótidos antisentido cuando las células alcanzan aproximadamente 60-80% con fluidez en el cultivo.

[0244] Un reactivo comúnmente utilizado para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye el reactivo de transfección de lípidos catiónicos LIPOFECTIN® (Invitrogen, Carlsbad, CA). Los oligonucleótidos antisentido se mezclan con LIPOFECTIN® en OPTI-MEM® 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para lograr la concentración final deseada de oligonucleótido antisentido y una concentración de LIPOFECTIN® que típicamente varía de 2 a 12 ug/mL por oligonucleótido antisentido 100 nM.

[0245] Otro reactivo usado para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye LIPOFECTAMINE 2000® (Invitrogen, Carlsbad, CA). El oligonucleótido antisentido se mezcla con LIPOFECTAMINE 2000® en medio sérico reducido OPTI-MEM® 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para lograr la concentración deseada de oligonucleótido antisentido y una concentración de LIPOFECTAMINE® que generalmente varía de 2 a 12 ug/mL por 100 nM antisentido oligonucleótido.

[0246] Otro reactivo usado para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye Cytofectin® (Invitrogen, Carlsbad, CA). El oligonucleótido antisentido se mezcla con Cytofectin® en medio sérico reducido OPTI-MEM® 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para lograr la concentración deseada de oligonucleótido antisentido y una concentración de Cytofectin® que generalmente varía de 2 a 12 ug/mL por oligonucleótido antisentido 100 nM.

[0247] Otra técnica utilizada para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye electroporación.

[0248] Las células se tratan con oligonucleótidos antisentido por métodos de rutina. Las células se cosechan típicamente 16-24 horas después del tratamiento con oligonucleótidos antisentido, momento en el cual los niveles de ARN o proteína de los ácidos nucleicos diana se miden por métodos conocidos en la técnica y descritos aquí. En general, cuando los tratamientos se realizan en múltiples repeticiones, los datos se presentan como el promedio de los tratamientos replicados.

[0249] La concentración de oligonucleótido antisentido utilizada varía de una línea celular a otra. Los métodos para determinar la concentración óptima de oligonucleótidos antisentido 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 LIPOFECTAMINE 2000®, Lipofectina o Citofectina. Los oligonucleótidos antisentido se usan en concentraciones más altas que varían de 625 a 20.000 nM cuando se transfectan mediante electroporación.

Aislamiento de ARN

[0250] El análisis de ARN puede realizarse en ARN celular total o poli(A) + ARNm. Los métodos de aislamiento de ARN son bien conocidos en la técnica. El ARN se prepara utilizando métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, utilizando el reactivo TRIZOL® (Invitrogen, Carlsbad, CA) de acuerdo con los protocolos recomendados por el fabricante.

Análisis de la inhibición de los niveles o expresión diana

[0251] La inhibición de los niveles o la expresión de un ácido nucleico DMPK se puede analizar de varias maneras conocidas en la técnica. Por ejemplo, los niveles de ácido nucleico diana pueden cuantificarse mediante, por ejemplo, análisis de transferencia Northern, reacción en cadena de polimerasa competitiva (PCR) o PCR cuantitativa en tiempo real. El análisis de ARN se puede realizar en ARN celular total o poli(A) + ARNm. Los métodos de aislamiento de ARN son bien conocidos en la técnica. El análisis de transferencia Northern también es una rutina en la técnica. La PCR cuantitativa en tiempo real puede realizarse convenientemente utilizando el sistema de detección de secuencias ABI PRISM® 7600, 7700 o 7900 disponible en el mercado, disponible en PE-Applied Biosystems, Foster City, CA y utilizado de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Análisis cuantitativo de PCR en tiempo real de los niveles de ARN diana

[0252] La cuantificación de los niveles de ARN diana se puede lograr mediante PCR cuantitativa en tiempo real utilizando el sistema de detección de secuencia ABI PRISM® 7600, 7700 o 7900 (PE-Applied Biosystems, Foster City, CA) según las instrucciones del fabricante. Los métodos de PCR cuantitativa en tiempo real son bien conocidos en la técnica.

[0253] Antes de la PCR en tiempo real, el ARN aislado se somete a una reacción de transcriptasa inversa (RT), que produce ADN complementario (ADNc) que luego se usa como sustrato para la amplificación por PCR en tiempo real. Las reacciones de RT y PCR en tiempo real se realizan secuencialmente en la misma muestra. Los reactivos de RT y PCR en tiempo real se obtienen de Invitrogen (Carlsbad, CA). RT, las reacciones de PCR en tiempo real se llevan a cabo mediante métodos bien conocidos por los expertos en la materia.

[0254] Las cantidades objetivo del gen (o ARN) obtenidas por PCR en tiempo real se normalizan usando el nivel de expresión de un gen cuya expresión es constante, tal como ciclofilina A, o cuantificando ARN total usando RIBOGREEN® (Invitrogen, Inc. Carlsbad, CALIFORNIA). La expresión de ciclofilina A se cuantifica por PCR en tiempo real, ejecutándose simultáneamente con el objetivo, multiplexación, o por separado. El ARN total se cuantifica usando el reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Invitrogen, Inc. Eugene, OR). Los métodos de cuantificación de ARN por RIBOGREEN® se enseñan en Jones, LJ y col., (Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374). Se utiliza un instrumento CYTOFLUOR® 4000 (PE Applied Biosystems) para medir la fluorescencia RIBOGREEN®.

[0255] Las sondas y los cebadores están diseñados para hibridarse con un ácido nucleico DMPK. Los métodos para diseñar sondas y cebadores de PCR en tiempo real son bien conocidos en la técnica, y pueden incluir el uso de software como CEBADOR EXPRESS® (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Análisis de los niveles de proteína

[0256] La inhibición antisentido de los ácidos nucleicos de DMPK se puede evaluar midiendo los niveles de proteína de DMPK. Los niveles de proteína de DMPK pueden evaluarse o cuantificarse en una variedad de formas bien conocidas en la técnica, tales como inmunoprecipitación, análisis de transferencia Western (inmunotransferencia), análisis de inmunosorción ligada a enzimas (ELISA), análisis cuantitativos de proteínas, análisis de actividad de proteínas (por ejemplo, ensayos de actividad de caspasa), inmunohistoquímica, inmunocitoquímica o clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS). Los anticuerpos dirigidos a una diana pueden identificarse y obtenerse de una variedad de fuentes, como el catálogo de anticuerpos MSRS (Aerie Corporation, Birmingham, MI), o pueden prepararse mediante métodos convencionales de generación de anticuerpos monoclonales o policlonales bien conocidos en la técnica.

Pruebas in vivo de compuestos antisentido

[0257] Los compuestos antisentido, por ejemplo, oligonucleótidos antisentido, se prueban en animales para evaluar su capacidad para inhibir la expresión de DMPK y producir cambios fenotípicos. Las pruebas se pueden realizar en animales normales o en modelos experimentales de enfermedades, por ejemplo, el modelo de distrofia miotónica de ratón HSA LR (DM1).

[0258] El modelo de ratón HSA^{LR} es un modelo establecido para DM1 (Mankodi, A. et al Science 289: 1769, 2000). Los ratones portan un transgen de actina esquelética humana (*hACTA1*) con 220 repeticiones CTG insertadas en el 3' UTR del gen. La transcripción *hACTA1*-CUG^{exp} se acumula en los focos nucleares en los músculos esqueléticos y produce una miotonía similar a la del DM1 humano (Mankodi, A. et al. Mol. Cell 10: 35, 2002; Lin, X. et al. Hum. Mol. Genet. 15: 2087, 2006). Por lo tanto, se espera que la mejora de los síntomas de DM1 en el ratón HSA LR mediante la inhibición antisentido del transgen *hACTA1* predeciría la mejora de síntomas similares en pacientes humanos mediante la inhibición antisentido del transcrito DMPK.

[0259] La expresión de ARN exp CUG en ratones causa una remodelación extensa del transcriptoma muscular, gran parte de la cual se reproduce por ablación de MBLN1. Por lo tanto, se espera que la normalización del transcriptoma en ratones HSA LR prediga la normalización del transcriptoma humano en pacientes con DM1 mediante la inhibición antisentido de la transcripción DMPK.

[0260] Para la administración a animales, los oligonucleótidos antisentido se formulan en un diluyente farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato. La administración incluye vías parenterales de administración. Después de un período de tratamiento con oligonucleótidos antisentido, se aísla el ARN del tejido y se miden los cambios en la expresión de ácido nucleico DMPK. También se miden los cambios en los niveles de proteína DMPK.

Empalme

[0261] La distrofia miotónica (DM1) es causada por expansiones repetidas de CTG en la región no traducida 3' del gen DMPK (Brook, JD y col. Cell. 68: 799, 1992). Esta mutación conduce al dominio del ARN, un proceso en donde la expresión de ARN que contiene una repetición CUG expandida (CUGexp) induce disfunción celular (Osborne RJ y Thornton CA., Human Molecular Genetics., 2006, 15 (2): R162-R169). Tales CUGexp se retienen en los focos nucleares de los músculos esqueléticos (Davis, BM y col. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 94: 7388, 1997). La acumulación de CUGexp en los focos nucleares conduce al secuestro de proteínas de unión a poli(CUG), tales como músculo ciego tipo 1 (MBLN1) (Miller, JW et al. EMBO J. 19: 4439, 2000). MBLN1 es un factor de empalme y regula el empalme de genes como Serca1, CIC-1, Titin y Zasp. Por lo tanto, el secuestro de MBLN1 por CUGexp desencadena un empalme alternativo mal regulado de los exones de genes que MBLN1 normalmente controla (Lin, X. et al. Hum. Mol. Genet. 15: 2087, 2006). La corrección del empalme alternativo en un animal que muestra dicha desregulación, como, por ejemplo, en un paciente con DM1 y el modelo de ratón HSALR, es un indicador útil de la eficacia de un tratamiento, incluido el tratamiento con un oligonucleótido antisentido.

Ciertos marcadores

5 **[0262]** La gravedad de DM1 en modelos de ratón está determinada, al menos en parte, por el nivel de acumulación de transcripción CUG exp en el núcleo o focos nucleares. Un marcador fisiológico útil para la severidad de DM1 es el desarrollo de corridas de alta frecuencia de potenciales de acción involuntaria (miotonía).

Ciertas indicaciones

10 **[0263]** Se describen en el presente documento métodos para tratar a un individuo que comprende administrar una o más composiciones farmacéuticas como se describe en el presente documento. En ciertos casos, el individuo tiene distrofia miotónica tipo 1 (DM1).

15 **[0264]** En consecuencia, se describen en el presente documento métodos para mejorar un síntoma asociado con la distrofia miotónica tipo 1 en un sujeto que lo necesita. También se describe un método para reducir la tasa de aparición de un síntoma asociado con la distrofia miotónica tipo 1. También se describe un método para reducir la gravedad de un síntoma asociado con la distrofia miotónica tipo 1. En ciertas realizaciones, los síntomas asociados con DM1 incluyen rigidez muscular, miotonía, debilidad distal incapacitante, debilidad en los músculos de la cara y la mandíbula, dificultad para tragar, caída de los párpados (ptosis), debilidad de los músculos del cuello, debilidad en los músculos de los brazos y las piernas, persistente dolor muscular, hipersomnia, desgaste muscular, disfagia, insuficiencia respiratoria, latidos cardíacos irregulares, daño muscular cardíaco, apatía, resistencia a la insulina y cataratas. En los niños, los síntomas también pueden ser retrasos en el desarrollo, problemas de aprendizaje, problemas de lenguaje y habla y problemas de desarrollo de la personalidad.

20 **[0265]** En ciertos casos, los métodos comprenden administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto dirigido a un ácido nucleico DMPK.

25 **[0266]** En ciertas sustancias iónicas, la administración de un compuesto antisentido dirigido a un ácido nucleico DMPK da como resultado la reducción de la expresión de DMPK en al menos aproximadamente 15%, en al menos aproximadamente 20%, en al menos aproximadamente 25%, en al menos aproximadamente 30%, en al menos aproximadamente 35%, en al menos aproximadamente 40%, en al menos aproximadamente 45%, en al menos aproximadamente 50%, en al menos aproximadamente 55%, en al menos aproximadamente 60%, en al menos aproximadamente 65%, en al menos aproximadamente 70%, en al menos aproximadamente 75%, en al menos aproximadamente 80%, en al menos aproximadamente 85%, en al menos aproximadamente 90%, en al menos aproximadamente 95% o en al menos aproximadamente 99%, o un intervalo definido por cualquiera de estos dos valores.

30 **[0267]** En ciertos casos, las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto antisentido dirigido a DMPK se usan para la preparación de un medicamento para tratar a un paciente que sufre o es susceptible a la distrofia miotónica tipo 1.

35 **[0268]** En ciertos casos, los métodos descritos en el presente documento incluyen administrar un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que tiene una porción de nucleobases contiguas como se describe en el presente documento de una secuencia mencionada en las SEQ ID NO: 12-156, 160-770 y 774-792.

Administración

40 **[0269]** En ciertos casos, los compuestos y composiciones como se describen en este documento se administran parenteralmente.

45 **[0270]** En ciertos casos, la administración parenteral es por infusión. La infusión puede ser crónica o continua o corta o intermitente. En ciertos casos, los agentes farmacéuticos infundidos se entregan con una bomba. En ciertos casos, la administración parenteral es por inyección (p. ej., inyección en bolo). La inyección puede administrarse con una jeringa.

50 **[0271]** La administración parenteral incluye administración subcutánea, administración intravenosa, administración intramuscular, administración intraarterial, administración intraperitoneal o administración intracraneal, por ejemplo, administración intratecal o intracerebroventricular. La administración puede ser continua, crónica, corta o intermitente.

55 **[0272]** En ciertos casos, la administración es administración subcutánea, intravenosa, intracerebral, intracerebroventricular, intratecal u otra que da como resultado un efecto sistémico del oligonucleótido (la administración sistémica se caracteriza por un efecto sistémico, es decir, un efecto en más de un tejido) o administración al SNC o al LCR.

60 **[0273]** La duración de la acción medida mediante la inhibición de la actina alfa 1 y la reducción de la miotonía en el modelo de ratón HSA LR de DM1 se prolonga en el tejido muscular, incluidos los cuádriceps, el gastrocnemio y el tibial anterior (ver ejemplos, más adelante). Las inyecciones subcutáneas de oligonucleótidos antisentido durante 4

semanas dan como resultado la inhibición de la actina alfa 1 en al menos un 70% en cuádriceps, gastrocnemio y tibial anterior en ratones HSA LR durante al menos 11 semanas (77 días) después de la finalización de la dosificación. Las inyecciones subcutáneas de oligonucleótidos antisentido durante 4 semanas dan como resultado la eliminación de miotonía en cuádriceps, gastrocnemio y tibial anterior en ratones HSA LR durante al menos 11 semanas (77 días) después de la finalización de la dosificación.

[0274] En ciertos casos, el suministro de un compuesto de composición, como se describe en el presente documento, da como resultado al menos un 70% de regulación negativa de un ARNm y/o proteína diana durante al menos 77 días. En ciertos casos, el suministro de un compuesto o composición, como se describe aquí, da como resultado 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% regulación descendente de un ARNm y/o proteína diana durante al menos 30 días, al menos 35 días, al menos 40 días, al menos 45 días, al menos 50 días, al menos 55 días, al menos 60 días, al menos 65 días, al menos 70 días, al menos 75 días, al menos 76 días, al menos 77 días, al menos 78 días, al menos 79 días, al menos 80 días, al menos 85 días, al menos 90 días, al menos 95 días, al menos 100 días, al menos 105 días, al menos 110 días, al menos 115 días, al menos 120 días, al menos 1 año.

[0275] En ciertos casos, un oligonucleótido antisentido se administra mediante inyección o infusión una vez cada 77 días. En ciertos casos, un oligonucleótido antisentido se administra por inyección o infusión una vez al mes, cada dos meses, cada tres meses, cada 6 meses, dos veces al año o una vez al año.

Ciertas terapias de combinación

[0276] En ciertos casos, un Cebador agente que comprende el oligonucleótido modificado de la divulgación se administra conjuntamente con uno o más agentes secundarios. En ciertos casos, dichos segundos agentes están diseñados para tratar la misma distrofia miotónica de tipo 1 que el Cebador agente descrito aquí. En ciertos casos, dichos segundos agentes están diseñados para tratar una enfermedad, trastorno o afección diferente como el Cebador agente descrito aquí. En ciertos casos, dichos segundos agentes están diseñados para tratar un efecto secundario no deseado de una o más composiciones farmacéuticas como se describe en el presente documento. En ciertos casos, los segundos agentes se administran conjuntamente con el Cebador agente para tratar un efecto no deseado del Cebador agente. En ciertos casos, los segundos agentes se administran conjuntamente con el Cebador agente para producir un efecto combinacional. En ciertos casos, los segundos agentes se administran conjuntamente con el Cebador agente para producir un efecto sinérgico.

[0277] En ciertos casos, se administran un Cebador agente y uno o más segundos agentes al mismo tiempo. En ciertos casos, el Cebador agente y uno o más segundos agentes se administran en diferentes momentos. En ciertos casos, el Cebador agente y uno o más segundos agentes se preparan juntos en una sola formulación farmacéutica. En ciertos casos, el Cebador agente y uno o más segundos agentes se preparan por separado.

EJEMPLOS

Divulgación no limitante

[0278] Si bien ciertos compuestos, composiciones y métodos descritos en el presente documento se han descrito con especificidad de acuerdo con ciertas realizaciones, los siguientes ejemplos sirven solo para ilustrar los compuestos descritos en el presente documento y no pretenden limitarlos

Ejemplo 1: Inhibición antisentido de la quinasa de proteína de la distrofia miotónica humana (DMPK) en células del músculo esquelético humano (hSKMC)

[0279] Los oligonucleótidos antisentido dirigidos a un ácido nucleico DMPK humano se probaron para determinar su efecto sobre el transcrito de ARN DMPK *in vitro*. Se transfectaron células hSKM cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 100 nM. Después de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de transcripción de ARN DMPK mediante PCR cuantitativa en tiempo real con el conjunto de Cebador de cebador humano RTS3164 (secuencia directa AGCCTGAGCCGGGAGATG, designada aquí como SEQ ID NO: 9; secuencia inversa GCGTAGTTGACTGGCGAAGTT, designada aquí como SEQ ID NO: 10; secuencia de Cebador AGGCCATCCGCACGGACAACCX, designada aquí como SEQ ID NO: 11). Los niveles de transcripción de ARN DMPK se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de hDMPK, en relación con las células de control no tratadas.

[0280] Los oligonucleótidos antisentido en las Tablas 1 y 2 son 5-10-5 gapmers, donde el segmento de separación comprende diez 2'-desoxinucleósidos y cada segmento de ala comprende cinco nucleósidos 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos en cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P = S). Todos los residuos de citosina en cada gapmer son 5-metilcitosinas. El 'sitio de inicio de destino' indica el nucleósido más 5' al que se dirige el oligonucleótido antisentido. El 'sitio de detención diana' indica el nucleósido más 3' al que se dirige el oligonucleótido antisentido. Todos los oligonucleótidos antisentido enumerados en la Tabla 1 se refieren a la SEQ ID NO: 1 (GENBANK N° de acceso NM_001081560.1). Todos los oligonucleótidos antisentido enumerados en la Tabla 2 se dirigen a la SEQ ID

ES 2 756 326 T3

NO: 2 (el complemento del N° de acceso de GENBANK NT_011109,15 truncado de los nucleótidos 18540696 a 18555106).

5 [0281] Varios oligonucleótidos antisentido demostraron una inhibición significativa de los niveles de ARNm de DMPK humano en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 1: Inhibición del transcrito de ARN de DMPK humano en hSKMC por 5-10-5 gamers dirigidos a la SEQ ID NO: 1

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS no	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
93	112	299476	CTGGCTGCATGTCTGCCTGT	81	12
277	296	299479	CCAGGAGAAGGTCGAGCAGG	57	13
737	756	299493	TCTATGGCCATGACAATCTC	57	14
773	792	299494	ATGTCCCTGTGCACGTAGCC	77	15
1194	1213	299501	ATGTGTCCGGAAGTCGCCTG	50	16
1628	1647	299511	CTCAGGCTCTGCCGGGTGAG	70	17
1855	1874	299517	GGCACTGGCCACAGCCACG	78	18
2379	2398	299526	CCTGGCCGAAAGAAAGAAAT	31	19
2367	2386	444380	AAAGAAATGGTCTGTGATCC	56	20
2370	2389	444381	AAGAAAGAAATGGTCTGTGA	77	21
2376	2395	444382	GGCCGAAAGAAAGAAATGGT	61	22
2385	2404	444383	CCTCAGCCTGGCCGAAAGAA	57	23
2388	2407	444384	GGGCCTCAGCCTGGCCGAAA	65	24
2391	2410	444385	TCAGGGCCTCAGCCTGGCCG	61	25
2411	2430	444386	CTGCAGTTTGCCCATCCACG	68	26
2414	2433	444387	GGCCTGCAGTTTGCCCATCC	77	27
2417	2436	444388	CCAGGCCTGCAGTTTGCCCA	54	28
2423	2442	444389	GCCTTCCCAGGCCTGCAGTT	77	29
2426	2445	444390	GCTGCCTTCCCAGGCCTGCA	83	30
2429	2448	444391	CTTGCTGCCTTCCCAGGCCT	69	31
2435	2454	444392	GCCCGGCTTGCTGCCTTCCC	82	32
2438	2457	444393	ACGGCCGGCTTGCTGCCTT	78	33
2441	2460	444394	CGGACGGCCCGGCTTGCTGC	57	34
2444	2463	444395	ACACGGACGGCCCGGCTTGC	73	35
2450	2469	444396	GATGGAACACGGACGGCCCG	80	36
2453	2472	444397	GAGGATGGAACACGGACGGC	86	37
2456	2475	444398	GTGGAGGATGGAACACGGAC	84	38
2481	2500	444399	GCGAACCAACGATAGGTGGG	80	39
2484	2503	444400	TTTGCGAACCAACGATAGGT	86	40
2490	2509	444401	TTGCATTTGCGAACCAACG	89	41
2493	2512	444402	GCTTTGCACTTTGCGAACCA	89	42
2496	2515	444403	AAAGCTTTGCACTTTGCGAA	83	43
2499	2518	444404	AAGAAAGCTTTGCACTTTGC	91	44
2502	2521	444405	CACAAGAAAGCTTTGCACTT	70	45
2508	2527	444406	GTCATGCACAAGAAAGCTTT	34	46
2527	2546	444407	ACGCTCCCCAGAGCAGGGCG	39	47
2543	2562	444408	GCAGAGATCGCGCCAGACGC	85	48
2546	2565	444409	CAGGCAGAGATCGCGCCAGA	65	49
2549	2568	444410	AAGCAGGCAGAGATCGCGCC	84	50
2555	2574	444411	CCGAGTAAGCAGGCAGAGAT	58	51
2558	2577	444412	TTCCCGAGTAAGCAGGCAGA	70	52
2564	2583	444413	GCAAATTTCCCGAGTAAGCA	62	53
2567	2586	444414	AAAGCAAATTTCCCGAGTAA	53	54
2573	2592	444415	TTGGCAAAGCAAATTTCCC	64	55
2576	2595	444416	GGTTTGGCAAAGCAAATTT	23	56
2579	2598	444417	GCGGGTTTGGCAAAGCAA	70	57
2582	2601	444418	AAAGCGGGTTTGGCAAAGC	43	58
2588	2607	444419	CCCGAAAAGCGGGTTTGGC	71	59

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS no	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
2591	2610	444420	ATCCCCGAAAAAGCGGGTTT	53	60
2595	2614	444421	CGGGATCCCCGAAAAAGCGG	45	61
2598	2617	444422	GCGCGGGATCCCCGAAAAAG	48	62
2623	2642	444423	GAGAGCAGCGCAAGTGAGGA	77	63
2626	2645	444424	TCCGAGAGCAGCGCAAGTGA	62	64
2629	2648	444425	GGCTCCGAGAGCAGCGCAAG	79	65
2649	2668	444426	AAGCGGGCGGAGCCGGCTGG	20	66
2652	2671	444427	CCGAAGCGGGCGGAGCCGGC	0	67
2658	2677	444428	AAACCGCCGAAGCGGGCGGA	0	68
2661	2680	444429	TCCAACCGCCGAAGCGGGC	45	69
2664	2683	444430	ATATCCAAACCGCCGAAGCG	31	70
2667	2686	444431	TAAATATCCAAACCGCCGAA	42	71
2670	2689	444432	CAATAAATATCCAAACCGCC	53	72
2676	2695	444433	CGAGGTCAATAAATATCCAA	63	73
2679	2698	444434	GGACGAGGTCAATAAATATC	83	74
2682	2701	444435	GGAGGACGAGGTCAATAAAT	82	75
2685	2704	444436	GTCCGAGGACGAGGTCAATA	86	76
2688	2707	444437	CGAGTCGGAGGACGAGGTCA	73	77
2694	2713	444438	TGTCAGCGAGTCGGAGGACG	79	78
2697	2716	444439	GCCTGTGAGCGAGTCGGAGG	83	79
2700	2719	444440	GTAGCCTGTGAGCGAGTCGG	94	80
2703	2722	444441	CCTGTAGCCTGTGAGCGAGT	90	81
2706	2725	444442	GGTCTGTAGCCTGTGAGCG	90	82
2764	2783	444443	AAATCCGAGGAATGTCCGG	82	83
2767	2786	444444	AATAAATACCGAGGAATGTC	66	84
2770	2789	444445	GACAATAAATACCGAGGAAT	67	85
2093	2112	445546	CGGGGCCCGGAGTCGAAGA	0 0	86
2097	2116	445547	CCAACGGGGCCCCGGAGTCG	38	87
2099	2118	445548	TTCCAACGGGGCCCCGGAGT	22	88
2102	2121	445549	GTCTTCCAACGGGGCCCCGG	50	89
2104	2123	445550	CAGTCTTCCAACGGGGCCCC	27	90
2106	2125	445551	CTCAGTCTTCCAACGGGGCC	57	91
2109	2128	445552	GCACTCAGTCTTCCAACGGG	69	92
2115	2134	445553	CCCCGGGCACTCAGTCTTCC	76	93
2117	2136	445554	TGCCCCGGGCACTCAGTCTT	59	94
2119	2138	445555	CGTGCCCCGGGCACTCAGTC	61	95
2123	2142	445556	GTGCCGTGCCCGGGCACTC	26	96
2126	2145	445557	TCTGTGCCGTGCCCGGGCA	50	97
2129	2148	445558	GCTTCTGTGCCGTGCCCGG	57	98
2132	2151	445559	GCGGCTTCTGTGCCGTGCC	27	99
2134	2153	445560	GCGCGGCTTCTGTGCCGTGC	0	100
2136	2155	445561	GGGCGGGCTTCTGTGCCGT	8	101
2142	2161	445562	GGCGGTGGGCGCGGCTTCTG	62	102
2146	2165	445563	GGCAGGCGGTGGGCGCGGCT	49	103
2148	2167	445564	CTGGCAGGCGGTGGGCGCGG	51	104
2150	2169	445565	AACTGGCAGGCGGTGGGCGC	38	105
2153	2172	445566	GTGAACTGGCAGGCGGTGGG	64	106
2157	2176	445567	GGTTGTGAACTGGCAGGCGG	66	107
2159	2178	445568	GCGGTTGTGAACTGGCAGGC	85	108
2163	2182	445569	CGGAGCGGTTGTGAACTGGC	92	109
2167	2186	445570	CGCTCGGAGCGGTTGTGAAC	51	110
2171	2190	445571	CCCACGCTCGGAGCGGTTGT	74	111

(continuación)

	Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS no	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
5	2174	2193	445572	AGACCCACGCTCGGAGCGGT	80	112
	2177	2196	445573	CGGAGACCCACGCTCGGAGC	83	113
	2180	2199	445574	GGGCGGAGACCCACGCTCGG	62	114
10	2183	2202	445575	GCTGGGCGGAGACCCACGCT	11	115
	2186	2205	445576	GGAGCTGGGCGGAGACCCAC	42	116
	2188	2207	445577	CTGGAGCTGGGCGGAGACCC	17	117
	2191	2210	445578	GGACTGGAGCTGGGCGGAGA	53	118
	2193	2212	445579	CAGGACTGGAGCTGGGCGGA	46	119
15	2197	2216	445580	ATCACAGGACTGGAGCTGGG	66	120
	2209	2228	445581	GGGCGGGCCCGGATCACAGG	85	121
	2211	2230	445582	GGGGCGGGCCCGGATCACA	96	122
	179	198	445583	AGGCAGCACCATGGCCCCCTC	88	123
20	235	254	445584	GGTCCAACACCAGCTGCTGG	84	124
	418	437	445585	CGATCACCTTCAGAATCTCG	11	125
	498	517	445586	CTTGTTTCATGATCTTCATGG	0 0	126
	565	584	445587	CCCCATTCACCAACACGTCC	83	127
	583	602	445588	GCGTGATCCACCGCCGTCC	59	128
25	639	658	445589	GTAATACTCCATGACCAGGT	86	129
	664	683	445590	GCAGTGTCCAGCAGGTCCCCG	83	130
	744	763	445591	CACCGAGTCTATGGCCATGA	60	131
	761	780	445592	ACGTAGCCAAGCCGGTGCAC	68	132
	812	831	445593	ATGTGGCCACAGCGGTCCAG	56	133
30	1099	1118	445594	CTTCGTCCACCAGCGGCAGA	32	134
	1104	1123	445595	GACCCCTTCGTCCACCAGCG	83	135
	1178	1197	445596	CCTGCTCCACCCCGGCCAG	82	136
	1187	1206	445597	CGGAAGTCGCCTGCTCCACC	81	137
35	1229	1248	445598	CGGAGACCATCCCAGTCGAG	67	138
	1402	1421	445599	TGAGGGCCATGCAGGAGTAG	26	139
	1443	1462	445600	CTCCAGTTCATGGGTGTGG	80	140
	1477	1496	445601	GCGCTTGACGTGTGGCTCA	94	141
	1526	1545	445602	GCCACTTCAGCTGTTTCATC	54	142
40	1562	1581	445603	GCCTCAGCCTTGCCGCAGG	71	143
	1576	1595	445604	GCAGCGTCACCTCGGCCTCA	31	144
	1630	1649	445605	GGCTCAGGCTTGCCGGGTG	86	145
	1700	1719	445606	TTCCGAGCCTTGCCCTCGCG	73	146
	1708	1727	445607	GGTCCCGGTTCCGAGCCTCT	76	147
45	1742	1761	445608	ATCCGCTCCTGCAACTGCCG	93	148
	1750	1769	445609	GCAACTCCATCCGCTCCTGC	60	149
	1812	1831	445610	AGGTGGATCCGTGGCCCGGG	48	150
	2133	2152	445611	CGCGGCTTCTGTGCCGTGCC	24	151
50	2428	2447	445612	TTGCTGCCTTCCCAGGCCTG	80	152

Tabla 2: Inhibición de la transcripción de ARN de DMPK humano en hSKMC por 5-10-5 gapmers dirigidos a la SEQ ID NO: 2

	Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS no	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
55	812	831	299471	TGCTCCCAGACAAGCTCCAGA	95	153
	876	895	299473	AGAACCTGCCATTGCTGAA	68	154
60	2381	2400	299535	CACTGAGGGCCAGACATATG	68	155
	3289	3308	299544	CTCTAGATTTCAGATGCAGGT	88	156

[0282] Los oligonucleótidos antisentido de las Tablas 1 y 2 también se probaron en un ensayo con condiciones similares a las descritas anteriormente, y los niveles de ARNm medidos con la Cebador de cebador humano RTS3162 (secuencia directa CGGGCCGTCCGTGTT, designada aquí como SEQ ID NO: 157; secuencia inversa

ES 2 756 326 T3

CTTTGCACTTTGCGAACCAA, designada aquí como SEQ ID NO: 158; secuencia de Cebador CATCCTCCACGCACCCCCACCX, designada aquí como SEQ ID NO: 159). Los resultados se presentan en la Tabla 3. La expresión de ARNm de DMPK también se evaluó mediante RTS3162 que se dirige al gen DMPK cerca del 3'UTR. El uso de una segunda Cebador de cebador se empleó para confirmar que la expresión del gen DMPK completo se había inhibido.

5

Tabla 3: Inhibición del transcrito de ARN DMPK humano en hSKMC por 5-10-5 gampers medidos usando el conjunto de Cebador de cebador RTS3162

ISIS no	% de inhibición
299471	91
299473	65
299476	76
299479	53
299493	60
299494	66
299501	44
299511	39
299517	71
299526	39
299535	75
299544	84
444380	72
444381	82
444382	67
444383	63
444384	66
444385	66
444386	74
444387	85
444388	60
444389	81
444390	88
444391	79
444392	94
444393	88
444394	94
444395	96
444396	96
444397	95
444398	96
444399	95
444400	95
444401	95
444402	91
444403	84
444404	89
444405	71
444406	47

ES 2 756 326 T3

(continuación)

ISIS no	% de inhibición
444407	42
444408	80
444409	56
444410	79
444411	66
444412	67
444413	55
444414	45
444415	57
444416	18
444417	64
444418	51
444419	66
444420	0 0
444421	46
444422	33
444423	74
444424	73
444425	78
444426	0 0
444427	0 0
444428	0 0
444429	75
444430	28
444431	58
444432	52
444433	60
444434	87
444435	76
444436	83
444437	71
444438	76
444439	73
444440	91
444441	87
444442	93
444443	77
444444	64

ES 2 756 326 T3

(continuación)

ISIS no	% de inhibición
444445	67
445546	0
445547	59
445548	49
445549	77
445550	62
445551	74
445552	84
445553	70
445554	63
445555	75
445556	52
445557	78
445558	81
445559	58
445560	12
445561	42
445562	70
445563	76
445564	69
445565	60
445566	86
445567	84
445568	92
445569	93
445570	59
445571	84
445572	88
445573	84
445574	74
445575	26
445576	56
445577	38
445578	69
445579	70
445580	75
445581	85
445582	95

(continuación)

	ISIS no	% de inhibición
5	445583	88
	445584	87
	445585	34
	445586	0
	445587	82
10	445588	66
	445589	87
	445590	82
	445591	68
	445592	64
15	445593	54
	445594	52
	445595	77
	445596	84
20	445597	78
	445598	73
	445599	29
	445600	68
	445601	92
25	445602	53
	445603	70
	445604	32
	445605	61
	445606	84
30	445607	80
	445608	91
	445609	68
	445610	63
35	445611	44
	445612	91

Ejemplo 2: Diseño de oligonucleótidos antisentido dirigidos a repeticiones CUG

40 **[0283]** Se diseñaron oligonucleótidos antisentido dirigidos a transcripciones de ARNm que contienen múltiples repeticiones CUG. La química de estos oligonucleótidos, así como su secuencia, se muestra en la Tabla 4. Los símbolos designados para el tipo de azúcar se muestran después de la base en el subíndice y son los siguientes: b = 2'-ON-[2-(dimetilamino)etil] acetamido ribosa; d = 2'-desoxirribosa; e = 2'-O-metoxietil ribosa; f = 2'-alfa-fluoro-2'-desoxirribosa; g = 2'-O-2[2-(2-metoxietoxi)etoxi] etil ribosa; h = 3'-fluoro-HNA; k = (S)-Et; 1 = LNA (ácidos nucleicos bloqueados); n = 2'-O-(N-metilacetamida) ribosa; o = 2'-O-dimetilaminooxietil (DMAOE) ribosa; p = PNA; r = propilribosa; y x = núcleo de aminoácidos. Los nombres de heterociclo se definen con símbolos estándar para adenina, citosina, timina y guanina, 'mC' para 5-metilcitosina y 'K' para la cadena lateral de Lisina. Los enlazadores se muestran después del tipo de azúcar en el subíndice y se designan con los siguientes símbolos: g = PNA-glicina llena; a = aminoácido; y s = tioato éster.

45

Tabla 4: Diseño de oligonucleótidos antisentido dirigidos a repeticiones CUG

ISIS no	Secuencia	Química	Columna vertebral	SEQ ID NO
431896	G _{ds} C _{ds} A _{hs} G _{ds} C _{ds} A _{hs} G _{ds} C _{ds} A _{hs} G _{ds} C _{ds} A _{hs} G _{ds} C _{ds} A _{hs} G _{ds} C _{ds} A _{hs} G _{ds}	Unidades de desoxi y LNA	Fosforotioato	802
433804	K _{xxa} G _{pg} C _{pg} A _{pg} G _{pg} C _{pg} A _{pg} G _{pg} C _{pg} A _{pg} G _{pg}	PNA y unidades de núcleo de aminoácidos con una tapa de carboxiamida	mezclado	803
444745	A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es}	MOE uniforme	Fosforotioato	789
444746	A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es}	MOE uniforme	Fosforotioato	804
444747	G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es}	MOE uniforme	Fosforotioato	802
444748	G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es} G _{es} mC _{es} A _{es}	MOE uniforme	Fosforotioato	805
444750	G _{hs} C _{hs} A _{ds} G _{ds} C _{hs} A _{ds} G _{ds} C _{hs} A _{ds} G _{ds} C _{hs} A _{ds} G _{ds} C _{hs} A _{ds} G _{ds} C _{hs} A _{ds}	Unidades de desoxi y (S)Et	Fosforotioato	805
444752	G _{ks} C _{ks} A _{es} G _{es} C _{ks} A _{es} G _{es} C _{ks} A _{es} G _{es} C _{ks} A _{es} G _{es} C _{ks} A _{es} G _{es} C _{ks} A _{es}	Unidades MOE y (S)Et	Fosforotioato	805
444754	G _{es} mC _{es} A _{fs} G _{fs} C _{fs} A _{fs} G _{fs} C _{fs} A _{fs} G _{fs} C _{fs} A _{fs} G _{fs} C _{fs} A _{fs} G _{fs} C _{fs} A _{fs}	MOE y unidades 2'-alpha-flouro	Fosforotioato	805
444759	G _{hs} mC _{hs} A _{hs} G _{hs} mC _{hs} A _{hs} G _{hs} mC _{hs} A _{hs} G _{hs} mC _{hs} A _{hs} G _{hs} mC _{hs} A _{hs} G _{hs} mC _{hs} A _{hs}	Uniforme 3'-flouro-HNA	Fosforotioato	805
444761	G _{rs} mC _{rs} A _{rs} G _{rs} mC _{rs} A _{rs} G _{rs} mC _{rs} A _{rs} G _{rs} mC _{rs} A _{rs} G _{rs} mC _{rs} A _{rs} G _{rs} mC _{rs} A _{rs}	Uniforme 2'-0-propitribosa	Fosforotioato	805
444762	G _{ns} mC _{ns} A _{ns} G _{ns} mC _{ns} A _{ns} G _{ns} mC _{ns} A _{ns} G _{ns} mC _{ns} A _{ns} G _{ns} mC _{ns} A _{ns} G _{ns} mC _{ns} A _{ns}	Uniforme 2'-O-(N-metilacetamida) ribosa	Fosforotioato	805

(Continuación)

ISIS no	Secuencia	Química	Columna vertebral	SEQ ID NO
444763	G ₀₈ mC _{es} A _{es} G ₀₈ mC _{es} A ₀₈ G ₀₈ mC _{es} A ₀₈ G ₀₈ mC _{es} A ₀₈ G ₀₈ mC _{es} A ₀₈ G ₀₈ mC _{es} A ₀	MOE y unidades de ribosa 2'-O-dimetilaminooxietil (DMAOE)	Fosforotioato	805
444764	G ₀₅ mC _{es} A _{es} G ₀₅ mC _{es} A _{es} G ₀₅ mC _{es} A _{es} G ₀₅ mC _{es} A _{es} G ₀₅ mC _{es} A _{es} G ₀₅ mC _{es} A _{es} G _g	MOE y unidades 2'-O-2-[2-(2-metoxietoxi)etoxi]etil ribosa	Fosforotioato	802
444765	G ₀₈ mC _{es} A _{es} G ₀₈ mC _{es} A _{es} G ₀₈ mC _{es} A _{es} G ₀₈ mC _{es} A _{es} G ₀₈ mC _{es} A _{es} G ₀₈ mC _{es} A _{es} G _{0b}	MOE y unidades 2'-ON-[2-(dimetilamino)etil]acetamido ribosa	Fosforotioato	802
473810	A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _k	Unidades de desoxi y (S)-Et	Fosforotioato	806
473811	A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _{ks} G _{ds} mC _{ds} A _k	Unidades de desoxi y (S)-Et	Fosforotioato	807

Ejemplo 3: inhibición antisentido dependiente de la dosis de DMPK humana en células del músculo esquelético humano

[0284] Varios de los oligonucleótidos antisentido que exhiben inhibición *in vitro* de DMPK en hSKMC (ver Ejemplo 1) se probaron a varias dosis. Las células se sembraron a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 1.250 nM, 2.500 nM, 5.000 nM, 10.000 nM y 20.000 nM de cada oligonucleótido antisentido. Después de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de transcripción de ARNm de DMPK mediante PCR cuantitativa en tiempo real usando el conjunto de Cebador de cebador RTS3164, descrito anteriormente. Los niveles de transcripción de ARNm de DMPK se normalizaron al contenido de ARN total, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan en la Tabla 5 como porcentaje de inhibición de DMPK, en relación con las células de control no tratadas.

[0285] Los oligonucleótidos antisentido probados demostraron una inhibición dependiente de la dosis de los niveles de ARNm de DMPK en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 5: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de DMPK humana en hSKMC probados con el conjunto de Cebador de cebador RTS3164

ISIS No.	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	CI ₅₀ (µM)
299471	34	65	87	91	94	1,60
299473	2	33	60	89	92	4,31
299476	15	17	49	81	91	4,89
299535	0 0	12	34	62	59	9,95
299535	20	33	47	67	80	5,11
299544	32	63	81	85	87	1,82
444397	10	30	58	85	82	4,51
444398	33	57	74	85	87	2,07
444400	52	46	63	82	88	1,76
444401	51	71	84	89	91	0,71
444402	53	79	83	87	84	<1,25
444404	48	68	77	86	90	0,95
444408	26	47	70	87	87	2,80
444410	22	47	67	83	87	3,12
444436	28	67	76	89	92	1,94
444440	70	77	83	89	85	<1,25
444441	33	55	81	87	86	1,99
444442	54	73	84	89	88	<1,25
445568	65	83	85	84	76	<1,25
445569	60	77	87	93	91	<1,25
445581	16	44	78	86	94	3,13
445582	0 0	7 7	26	96	99	5,60
445583	39	53	73	89	94	2,00
445584	20	26	61	81	93	4,02
445589	42	61	81	91	87	1,36
445601	49	79	87	93	94	0,66
445608	26	59	71	85	97	2,41
445612	46	59	72	88	93	1,51

[0286] Los oligonucleótidos antisentido de la Tabla 5 también se probaron con el conjunto de Cebador de cebador RTS3162, se describe en lo anterior. Los resultados se presentan en la Tabla 6. La expresión de ARNm de DMPK también se evaluó mediante RTS3162 que se dirige al gen DMPK cerca del 3'UTR. El uso de una segunda Cebador de cebador se empleó para confirmar que la expresión del gen DMPK completo se había inhibido.

ES 2 756 326 T3

ISIS No.	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	Cl ₅₀ (µM)
299471	40	72	86	91	93	1,17
299473	6	43	63	87	89	3,86
299476	3	21	48	74	86	5,58
299535	9	22	36	62	77	7,05
299535	6	19	49	68	70	6,70
299544	35	66	81	84	87	1,52
444397	88	90	95	97	96	<1,25
444398	91	97	97	97	98	<1,25
444400	72	87	93	96	96	<1,25
444401	86	92	97	98	97	<1,25
444402	83	91	94	95	95	<1,25
444404	49	69	81	90	93	0,92
444408	21	46	70	84	86	3,10
444410	35	55	77	89	91	2,02
444436	37	66	81	89	92	1,50
444440	66	79	89	92	89	<1,25
444441	40	62	85	89	89	1,40
444442	55	75	86	90	91	<1,25
445568	74	92	91	92	91	<1,25
445569	68	83	90	94	93	<1,25
445581	8	48	77	85	92	3,33
445582	15	22	44	97	99	4,29
445583	36	58	71	87	92	1,96
445584	25	43	66	86	94	3,05
445589	38	56	77	85	81	1,74
445601	55	76	84	93	93	<1,25
445608	22	56	72	86	94	2,66
445612	61	75	85	91	94	<1,25

Tabla 7: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de DMPK humana en hSKMC probado con el conjunto de Cebador de cebador RTS3164

ISIS No.	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	CI ₅₀ (µM)
299471	34	65	87	91	94	1,59
299473	2	33	60	89	92	4,31
299476	15	17	49	81	91	4,89
299535	0	12	34	62	59	9,95
299535	20	33	47	67	80	5,11
299544	32	63	81	85	87	1,82
444397	10	30	58	85	82	4,51
444398	33	57	74	85	87	2,07
444400	52	46	63	82	88	1,76
444401	51	71	84	89	91	<1,25
444402	53	79	83	87	84	<1,25
444404	48	68	77	86	90	0,95
444408	26	47	70	87	87	2,80
444410	22	47	67	83	87	3,12
444436	28	67	76	89	92	1,94
444440	66	77	83	89	85	<1,25
444441	33	55	81	87	86	1,99
444442	54	73	84	89	88	<1,25
445568	65	83	85	84	76	<1,25
445569	60	77	87	93	91	<1,25
445581	16	44	78	86	94	3,13
445582	0	77	26	96	99	5,62
445583	39	53	73	89	94	1,97
445584	20	26	61	81	93	4,20
445589	42	61	81	91	87	1,36
445601	49	79	87	93	94	0,66
445608	26	59	71	85	97	2,41
445612	46	59	72	88	93	1,51

Ejemplo 5: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de DMPK humana en células del músculo esquelético humano

[0289] Se diseñaron varios oligonucleótidos antisentido para atacar el ARNm DMPK humano y se analizaron en hSKMC a diversas dosis. Varios otros oligonucleótidos antisentido se diseñaron para atacar el ARNm de actina humana y también se analizaron en hSKMC a varias dosis. Los separadores de nuevo diseño son separadores 2-10-2 MOE o 3-10-3 MOE. Los gapmers 2-10-2 MOE tienen 14 nucleósidos de longitud y donde el segmento gap comprende diez 2'-desoxinucleósidos y cada segmento de ala comprende dos nucleósidos 2'-MOE. Los gapmers 3-10-3 MOE tienen 16 nucleósidos de longitud y donde el segmento gap comprende diez 2'-desoxinucleósidos y cada segmento de ala comprende tres nucleósidos 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos en cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P = S). Todos los residuos de citosina en cada separador son 5-metilcitosinas. El 'sitio de inicio objetivo' indica el nucleósido más 5' al que se dirige el oligonucleótido antisentido. El 'sitio de detención diana' indica el nucleósido más 3' al que se dirige el oligonucleótido antisentido. Los oligonucleótidos antisentido enumerados en la Tabla 8 se dirigen a la secuencia genómica DMPK humana, designada aquí como SEQ ID NO: 2 (el complemento de GENBANK Access No. NT_011109,15 truncado de los nucleótidos 18540696 a 18555106) o la secuencia de actina humana, designada aquí como SEQ ID NO: 801 (GENBANK N° de acceso NM_001100,3).

[0290] Las células se sembraron a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 1.250 nM, 2.500 nM, 5.000 nM, 10.000 nM y 20.000 nM de cada oligonucleótido antisentido. Después de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de transcripción de ARNm de DMPK mediante PCR cuantitativa en tiempo real usando el conjunto de Cebador de cebador RTS3162, descrito anteriormente. Los niveles de transcripción de ARNm de DMPK se normalizaron al contenido de ARN total, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan en la Tabla 8 como porcentaje de inhibición de DMPK, en relación con las células de control no tratadas. Los oligonucleótidos antisentido también se probaron en condiciones similares con RTS3164. Los resultados se presentan en la Tabla 9.

[0291] Muchos de los oligonucleótidos antisentido probados demostraron una inhibición dependiente de la dosis de los niveles de ARNm de DMPK en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 8: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de DMPK humano y actina humana en hSKMC probado con el conjunto de sonda de cebador RTS3162

ISIS no	Secuencia	Motivo	SEQ ID de destino NO	Iniciar sitio	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	Cl ₅₀ (nM)	SEQ ID NO
468787	CTCCCGACAAGCTCCA	3-10-3	2	814	28	47	51	84	88	3,27	808
468772	TCCCGACAAGCTCC	2-10-2	2	815	17	39	67	72	80	4,04	809
468795	GCTTGCACGTGTGGCT	3-10-3	2	10935	32	58	77	85	75	1,94	810
468780	CTTGCACGTGTGGC	2-10-2	2	10936	22	17	43	66	77	6,23	811
468793	GGTTGTGAAGTGGCAG	3-10-3	2	13224	69	77	93	96	96	<1,25	812
468778	GTTGTGAAGTGGCA	2-10-2	2	13225	60	69	89	95	97	<1,25	813
468794	GAGCGGTTGTGAAGTGTG	3-10-3	2	13228	21	32	61	70	86	4,27	814
468779	AGCGGTTGTGAAGT	2-10-2	2	13229	40	45	72	91	97	2,20	815
468796	GCTGCCITCCCAGGCC	3-10-3	2	13493	73	79	91	96	95	<1,25	816
468781	CTGCCITCCCAGGCC	2-10-2	2	13494	36	53	66	86	90	2,28	817
468788	GCACITTCGGAACCAA	3-10-3	2	13555	55	80	84	94	96	<1,25	818
468773	CACITTCGGAACCAA	2-10-2	2	13556	31	52	82	91	93	2,16	819
468789	GAAAGCTTTCACITTT	3-10-3	2	13564	42	66	83	91	98	1,31	820
468774	AAAGCTTTCACIT	2-10-2	2	13565	21	0	31	41	55	1,87	821
468790	CGGAGGACGAGGTCAA	3-10-3	2	13750	43	57	79	87	89	1,51	822
468775	GGAGGACGAGGTCA	2-10-2	2	13751	27	51	58	78	81	3,18	823
468791	AGCCTGTACGCGAGTC	3-10-3	2	13765	49	63	85	62	95	1,04	824
468776	GCCTGTACGCGAGT	2-10-2	2	13766	65	47	81	88	93	<1,25	825
468792	TCCTGTAGCCTGTGTCAG	3-10-3	2	13771	38	57	73	85	93	1,91	826
468777	CCTGTAGCCTGTGTCAG	2-10-2	2	13772	15	58	66	85	92	2,99	827
468783	GAAGCGAGGCTTCACT	3-10-3	801	22	0	20	5	0	0	>20,00	828
468768	AAGCGAGGCTTCACT	2-10-2	801	23	25	22	5	17	0	>20,00	829
468784	ACCTGCCCGTCTGGCA	3-10-3	801	836	15	25	32	18	25	>20,00	830
468769	CCTGCCCGTCTGGC	2-10-2	801	837	32	11	11	20	32	>20,00	831
468782	GGTCAGCGATCCCAGG	3-10-3	801	1030	0	0	0	0	0	>20,00	832
468767	GTCAGCGATCCCAG	2-10-2	801	1031	15	0	11	0	0	>20,00	833
468785	ATTTTCTTCCACAGGG	3-10-3	801	1432	12	0	0	0	0	>20,00	834
468770	TTTTTCTTCCACAGG	2-10-2	801	1433	36	2	0	0	28	>20,00	835
468786	GAATGACITTAATGCT	3-10-3	801	1462	0	0	0	4	0	>20,00	836
468771	AATGACITTAATGC	2-10-2	801	1463	8	16	0	5	0	>20,00	837

Tabla 9: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de DMPK humana en hSKMC probado con conjunto de Cebador de cebador RTS3164

	ISIS no	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	Cl ₅₀ (µM)
5	468777	20	66	72	87	96	2,41
	468776	68	48	86	90	96	<1,25
	468794	18	23	58	65	86	4,97
	468787	36	50	51	88	92	2,69
10	468772	12	47	69	80	86	3,57
	468773	33	48	82	91	96	2,21
	468774	21	0	30	42	59	1,60
	468790	50	57	77	91	91	1,26
	468780	23	22	55	73	85	4,69
15	468775	29	52	55	79	84	3,03
	468782	9 9	0	0	0	0	>20,00
	468786	2	0	0	0	0	>20,00
	468785	15	0	1	0	5	>20,00
20	468788	57	74	76	94	96	<1,25
	468791	45	66	88	61	97	1,10
	468789	26	65	82	90	97	2,02
	468781	28	46	59	82	84	3,08
	468779	26	31	66	90	97	3,29
25	468784	7	23	26	7 7	18	>20,00
	468783	0	16	8	0	0	>20,00
	468792	26	49	73	84	92	2,72
	468795	30	53	83	86	85	2,14
	468793	49	66	90	96	95	0,93
30	468768	23	3	5 5	9 9	0	>20,00
	468767	0	0	14	0	0	>20,00
	468769	31	0	0	16	25	>20,00
	468771	4 4	0	0	0	0	>20,00
35	468770	33	0	0	0	32	>20,00
	468796	62	72	84	96	95	<1,25
	468778	44	58	86	96	98	1,44

Ejemplo 6: Estudios de respuesta a dosis con oligonucleótidos antisentido dirigidos a distrofia humana miotónicaquinasa de proteína (DMPK) en células de fibroblastos DM1

[0292] La forma mutante del ARNm de DMPK, que alberga las repeticiones CUG grandes, se transcriben completamente y se poliadenilan, pero permanecen atrapadas en el núcleo (Davis et al, 1997, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 94, 7388-7393). Estos ARNm mutantes con retención nuclear son una de las características patológicas más importantes de la distrofia miotónica 1 (DM1). Se estudió la inhibición antisentido del ARNm de DMPK mutante en células de fibroblastos DM1.

[0293] El gen DMPK normalmente tiene 5-37 repeticiones CTG en la región no traducida 3'. En la distrofia miotónica tipo I, este número se expande significativamente y puede estar en el rango de 50 a más de 3.500 (Harper, Distrofia miotónica (Saunders, Londres, ed. 3, 2001); Annu Rev. Neurosci. 29: 259, 2006; EMBO J. 19: 4439, 2000; Curr Opin Neurol. 20: 572, 2007). Las células de fibroblastos DM1 se sembraron en placas a una densidad de 4.500 células por pocillo y se transfectaron usando reactivo de citofectina con concentraciones de 9,4 nM, 18,8 nM, 37,5 nM, 75,0 nM, 150,0 nM y 300,0 nM de cada oligonucleótido antisentido. Después de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de transcripción de ARN DMPK mediante PCR cuantitativa en tiempo real usando el conjunto de Cebador de cebador RTS3164, descrito anteriormente. Los niveles de transcripción de ARN DMPK se normalizaron al contenido de ARN total, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan en la Tabla 10 como porcentaje de inhibición de DMPK, en relación con las células de control no tratadas.

[0294] También se realizó un ensayo con condiciones similares con el conjunto de Cebador de cebador RTS3162, descrito anteriormente, que se dirige al extremo 3' de la transcripción DMPK. Los resultados se presentan en la Tabla 11 como porcentaje de inhibición de DMPK, en relación con las células de control no tratadas.

[0295] Los oligonucleótidos antisentido probados demostró una inhibición dependiente de la dosis de los niveles de ARNm DMPK bajo las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 10: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de ARNm de DMPK en células de fibroblastos DM1 con RTS3164

ISIS No.	9,4 nM	18,8 nM	37,5 nM	75,0 nM	150,0 nM	300,0 nM	CI ₅₀ (nM)
299471	10	25	31	47	61	73	86,3
444401	8	27	41	60	67	74	64,3
444404	10	21	31	43	55	73	100,0
444436	7 7	17	36	64	68	70	72,3
445569	19	31	41	59	46	77	72,2

Tabla 11: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de ARNm de DMPK en células de fibroblastos DM1 con RTS3162

ISIS No	9,4 nM	18,8 nM	37,5 nM	75,0 nM	150,0 nM	300,0 nM	CI ₅₀ (nM)
299471	7	25	29	46	48	69	115,3
444401	20	34	52	72	83	89	35,8
444404	5 5	20	28	42	54	77	98,8
444436	12	15	27	61	68	75	74,3
445569	5 5	25	33	53	50	76	89,6

Ejemplo 7: Inhibición antisentido de DMPK humana en células del músculo esquelético humano (hSKMc)

[0296] Los oligonucleótidos antisentido dirigidos a un ácido nucleico DMPK humano se probaron para determinar su efecto sobre el transcrito de ARN DMPK *in vitro*. Las hSKMc cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo se transfectaron usando electroporación con oligonucleótido antisentido 10.000 nM. Después de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de transcripción de DMPK mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Los niveles de transcripción de ARN DMPK se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de DMPK, en relación con las células de control no tratadas.

[0297] Los oligonucleótidos antisentido en las Tablas 12 y 13 son 5-10-5 gapmers, donde el segmento hueco comprende diez 2'-desoxinucleósidos y cada segmento de ala comprende cinco nucleósidos de 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos en cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P = S). Todos los residuos de cytoosine a lo largo de cada gapmer son 5-metilcitosinas. El "sitio de inicio de destino" indica el nucleósido más 5' al que se dirige el oligonucleótido antisentido en la secuencia del gen genómico humano. El "sitio de detención objetivo" indica el nucleósido más 3' al que se dirige el oligonucleótido antisentido en la secuencia genómica humana. Todos los oligonucleótidos antisentido enumerados en la Tabla 12 se refieren a la SEQ ID NO: 1 (GENBANK N° de acceso NM_001081560,1). Todos los oligonucleótidos antisentido enumerados en la Tabla 13 se dirigen a la SEQ ID NO: 2 (el complemento del GENBANK N° de acceso NT_011109,15 truncado de los nucleótidos 18540696 a 18555106).

[0298] Varios de los oligonucleótidos antisentido demostraron una inhibición significativa de los niveles de ARNm de DMPK en las condiciones especificadas anteriormente.

ES 2 756 326 T3

Tabla 12: Inhibición del transcrito de ARN DMPK humano en hSKMc por 5-10-5 gampers dirigidos a SEQ ID NO: 1

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS no	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
124	143	502369	GCCTGGCAGCCCCTGTCCAG	16	160
125	144	502370	GGCCTGGCAGCCCCTGTCCA	58	161
126	145	502371	GGGCCTGGCAGCCCCTGTCC	62	162
169	188	502372	ATGGCCCCTCCCCGGGCCGG	41	163
170	189	502373	CATGGCCCCTCCCCGGGCCGG	29	164
171	190	502374	CCATGGCCCCTCCCCGGGCC	34	165
172	191	502375	ACCATGGCCCCTCCCCGGGC	60	166
173	192	502376	CACCATGGCCCCTCCCCGGG	68	167
174	193	502377	GCACCATGGCCCCTCCCCGG	75	168
175	194	502378	AGCACCATGGCCCCTCCCCG	65	169
176	195	502379	CAGCACCATGGCCCCTCCCC	63	170
177	196	502380	GCAGCACCATGGCCCCTCCC	73	171
178	197	502381	GGCAGCACCATGGCCCCTCC	80	172
180	199	502382	CAGGCAGCACCATGGCCCCT	82	173
181	200	502383	ACAGGCAGCACCATGGCCCC	72	174
183	202	502384	GGACAGGCAGCACCATGGCC	70	175
184	203	502385	TGGACAGGCAGCACCATGGC	71	176
185	204	502386	TTGGACAGGCAGCACCATGG	73	177
186	205	502387	GTTGGACAGGCAGCACCATG	73	178
187	206	502388	TGTTGGACAGGCAGCACCAT	60	179
188	207	502389	ATGTTGGACAGGCAGCACCA	75	180
189	208	502390	CATGTTGGACAGGCAGCAC	81	181
190	209	502391	ACATGTTGGACAGGCAGCAC	67	182
191	210	502392	GACATGTTGGACAGGCAGCA	71	183
192	211	502393	TGACATGTTGGACAGGCAGC	81	184
193	212	502394	CTGACATGTTGGACAGGCAG	76	185
194	213	502395	GCTGACATGTTGGACAGGCA	70	186
195	214	502396	GGCTGACATGTTGGACAGGC	77	187
196	215	502397	CGGCTGACATGTTGGACAGG	74	188
197	216	502398	TCGGCTGACATGTTGGACAG	63	189
198	217	502399	CTCGGCTGACATGTTGGACA	80	190
199	218	502400	CCTCGGCTGACATGTTGGAC	71	191
200	219	502401	ACCTCGGCTGACATGTTGGA	64	192
201	220	502402	CACCTCGGCTGACATGTTGG	71	193
202	221	502403	GCACCTCGGCTGACATGTTG	77	194
203	222	502404	CGCACCTCGGCTGACATGTT	80	195
204	223	502405	CCGCACCTCGGCTGACATGT	80	196
205	224	502406	GCCGCACCTCGGCTGACATG	79	197

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
206	225	502407	AGCCGCACCTCGGCTGACAT	74	198
207	226	502408	CAGCCGCACCTCGGCTGACA	66	199
208	227	502409	TCAGCCGCACCTCGGCTGAC	15	200
209	228	502410	CTCAGCCGCACCTCGGCTGA	32	201
210	229	502411	CCTCAGCCGCACCTCGGCTG	65	202
211	230	502412	GCCTCAGCCGCACCTCGGCT	81	203
232	251	502413	CCAACACCAGCTGCTGGAGC	90	204 204
233	252	502414	TCCAACACCAGCTGCTGGAG	78	205
234	253	502415	GTCCAACACCAGCTGCTGGA	84	206
236	255	502416	GGGTCCAACACCAGCTGCTG	69	207
257	276	502417	GGCTCCAGCCCCAGGAAGCC	46	208
258	277	502418	GGGCTCCAGCCCCAGGAAGC	28	209
276	295	502419	CAGGAGAAGGTCGAGCAGGG	41	210
278	297	502420	CCCAGGAGAAGGTCGAGCAG	71	211
279	298	502421	GCCCAGGAGAAGGTCGAGCA	85	212
280	299	451363	CGCCCAGGAGAAGGTCGAGC	84	213
281	300	502422	ACGCCAGGAGAAGGTCGAG	67	214
317	336	502423	TCCTGGGCCAGTTCGGAGGC	58	215
318	337	502424	GTCCTGGGCCAGTTCGGAGG	71	216
319	338	502425	TGTCCTGGGCCAGTTCGGAG	69	217
320	339	502426	TTGTCTGGGCCAGTTCGGA	71	218
321	340	502427	CTTGCTGGGCCAGTTCGG	66	219
322	341	502428	ACTTGTCTGGGCCAGTTCG	59	220
323	342	502429	TACTTGTCTGGGCCAGTTC	75	221
324	343	502430	GTACTTGTCTGGGCCAGTT	78	222
325	344	502431	CGTACTTGTCTGGGCCAGT	74	223
343	362	502432	ACTGCAAGAAGTCGGCCACG	73	224
345	364	502433	CCACTGCAAGAAGTCGGCCA	65	225
346	365	451364	CCCACTGCAAGAAGTCGGCC	32	226
347	366	502434	GCCCACTGCAAGAAGTCGGC	70	227
348	367	502435	CGCCCACTGCAAGAAGTCGG	61	228
349	368	502436	CCGCCCACTGCAAGAAGTCG	54	229
350	369	502437	TCCGCCCACTGCAAGAAGTC	40	230
351	370	502438	CTCCGCCCACTGCAAGAAGT	33	231
352	371	502439	GCTCCGCCCACTGCAAGAAG	23	232
353	372	502440	GGCTCCGCCCACTGCAAGAA	23	233
354	373	502441	GGGCTCCGCCCACTGCAAGA	17	234
355	374	502442	TGGGCTCCGCCCACTGCAAG	22	235

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
356	375	502443	ATGGGGCTCCGCCCACTGCAA	14	236
357	376	502444	GATGGGGCTCCGCCCACTGCA	43	237
358	377	502445	CGATGGGGCTCCGCCCACTGC	37	238
359	378	502446	ACGATGGGGCTCCGCCCACTG	0	239
360	379	502447	CACGATGGGGCTCCGCCCACT	59	240
361	380	502448	CCACGATGGGGCTCCGCCCAC	69	241
362	381	502449	ACCACGATGGGGCTCCGCCCA	63	242
363	382	502450	CACCACGATGGGGCTCCGCCCC	73	243
364	383	502451	TCACCACGATGGGGCTCCGCC	77	244
365	384	502452	CTCACCACGATGGGGCTCCGC	66	245
366	385	502453	CCTCACCACGATGGGGCTCCG	81	246
367	386	502454	GCCTCACCACGATGGGGCTCC	77	247
368	387	502455	AGCCTCACCACGATGGGGCTC	63	248
369	388	502456	AAGCCTCACCACGATGGGGCT	70	249
370	389	502457	TAAGCCTCACCACGATGGGC	78	250
371	390	502458	TTAAGCCTCACCACGATGGG	76	251
372	391	502459	CCTAAGCCTCACCACGATGG	78	252
373	392	502460	CCTTAAGCCTCACCACGATG	68	253
374	393	502461	TCCTTAAGCCTCACCACGAT	67	254
375	394	502462	CTCCTTAAGCCTCACCACGA	84	255
376	395	502463	CCTCCTTAAGCCTCACCACG	76	256
377	396	502464	ACCTCCTTAAGCCTCACCAC	64	257
378	397	502465	GACCTCCTTAAGCCTCACCA	72	258
379	398	502466	GGACCTCCTTAAGCCTCAC	69	259
380	399	502467	CGGACCTCCTTAAGCCTCAC	81	260
381	400	502468	TCGGACCTCCTTAAGCCTCA	78	261
382	401	502469	GTCGGACCTCCTTAAGCCTC	57	262
384	403	502470	CAGTCGGACCTCCTTAAGCC	62	263
385	404	502471	GCAGTCGGACCTCCTTAAGC	45	264
386	405	502472	TGCAGTCGGACCTCCTTAAG	60	265
412	431	502473	CCTTCAGAATCTCGAAGTCG	67	266
413	432	502474	ACCTTCAGAATCTCGAAGTC	50	267
415	434	502475	TCACCTTCAGAATCTCGAAG	54	268
416	435	502476	ATCACCTTCAGAATCTCGAA	38	269
417	436	502477	GATCACCTTCAGAATCTCGA	35	270
419	438	502478	CCGATCACCTTCAGAATCTC	52	271
420	439	502479	TCCGATCACCTTCAGAATCT	50	272
421	440	502480	GTCCGATCACCTTCAGAATC	44	273

ES 2 756 326 T3

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
422	441	502481	CGTCCGATCACCTTCAGAAT	41	274
467	486	502482	CCCGTCTGCTTCATCTTCAC	67	275
468	487	502483	GCCCGTCTGCTTCATCTTCA	76	276
469	488	502484	GGCCCGTCTGCTTCATCTTC	57	277
470	489	502485	TGGCCCGTCTGCTTCATCTT	64	278
471	490	502486	CTGGCCCGTCTGCTTCATCT	64	279
472	491	502487	CCTGGCCCGTCTGCTTCATC	73	280
473	492	502488	ACCTGGCCCGTCTGCTTCAT	64	281
474	493	502489	CACCTGGCCCGTCTGCTTCA	80	282
475	494	502490	ACACCTGGCCCGTCTGCTTC	71	283
476	495	502491	TACACCTGGCCCGTCTGCTT	74	284
497	516	502492	TTGTTTCATGATCTTCATGGC	56	285
499	518	502493	ACTTGTTTCATGATCTTCATG	23	286
500	519	502494	CACTTGTTTCATGATCTTCAT	43	287
501	520	502495	CCACTTGTTTCATGATCTTCA	43	288
502	521	502496	CCCCTTGTTTCATGATCTTC	47	289
503	522	502497	TCCCCTTGTTTCATGATCTT	34	290
504	523	502498	GTCCCCTTGTTTCATGATCT	34	291
505	524	502499	TGTCCCCTTGTTTCATGATC	27	292
506	525	502500	ATGTCCCCTTGTTTCATGAT	23	293
507	526	502501	CATGTCCCCTTGTTTCATGA	51	294
508	527	502502	GCATGTCCCCTTGTTTCATG	20	295
509	528	502503	AGCATGTCCCCTTGTTTCAT	52	296
510	529	502504	CAGCATGTCCCCTTGTTTCA	72	297
511	530	502505	TCAGCATGTCCCCTTGTTTC	70	298
512	531	502506	TTCAGCATGTCCCCTTGTT	53	299
513	532	502507	CTTCAGCATGTCCCCTTGTT	52	300
514	533	502508	TCTTCAGCATGTCCCCTTG	45	301
516	535	502509	CCTCTTCAGCATGTCCCCT	68	302
517	536	502510	CCCTCTTCAGCATGTCCCAC	68	303
518	537	502511	CCCCTCTTCAGCATGTCCCA	79	304
519	538	502512	GCCCCTCTTCAGCATGTCCC	85	305
520	539	502513	CGCCCCTCTTCAGCATGTCC	84	306
521	540	502514	TCGCCCTCTTCAGCATGTC	80	307
522	541	502515	CTCGCCCCTCTTCAGCATGT	82	308
523	542	502516	CCTCGCCCCTCTTCAGCATG	78	309
524	543	502517	ACCTCGCCCCTCTTCAGCAT	73	310
525	544	502518	CACCTCGCCCCTCTTCAGCA	76	311

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
526	545	502519	ACACCTCGCCCCTTTCAGC	79	312
527	546	502520	GACACCTCGCCCCTTTCAG	73	313
821	840	502521	GCCAGGCGGATGTGGCCACA	57	314
868	887	502522	ACCGCACCGTTCCATCTGCC	62	315
869	888	502523	GACCGCACCGTTCCATCTGC	29	316
923	942	502524	ACAGCCTGCAGGATCTCGGG	86	317
924	943	502525	CACAGCCTGCAGGATCTCGG	81	318
925	944	502526	CCACAGCCTGCAGGATCTCG	83	319
926	945	502527	CCCACAGCCTGCAGGATCTC	84	320
927	946	502528	GCCCACAGCCTGCAGGATCT	91 91	321
928	947	502529	CGCCCACAGCCTGCAGGATC	90	322
929	948	502530	CCGCCACAGCCTGCAGGAT	82	323
930	949	502531	ACCGCCCACAGCCTGCAGGA	83	324
931	950	502532	CACCGCCCACAGCCTGCAGG	85	325
932	951	502533	CCACCGCCCACAGCCTGCAG	84	326
933	952	502534	CCCACCGCCCACAGCCTGCA	80	327
934	953	502535	GCCCACCGCCCACAGCCTGC	90	328
935	954	502536	GGCCCACCGCCCACAGCCTG	94	329
936	955	502537	AGGCCACCGCCCACAGCCT	88	330
937	956	502538	CAGGCCACCGCCCACAGCC	91 91	331
938	957	502539	CCAGGCCACCGCCCACAGC	73	332
939	958	502540	CCCAGGCCACCGCCCACAG	86	333
940	959	502541	TCCAGGCCACCGCCCACA	88	334
941	960	502542	GTCCCAGGCCACCGCCCAC	84	335
942	961	502543	TGTCCCAGGCCACCGCCCA	85	336
943	962	502544	CTGTCCCAGGCCACCGCCC	65	337
944	963	502545	CCTGTCCCAGGCCACCGCC	81	338
945	964	502546	GCCTGTCCCAGGCCACCGC	90	339
946	965	502547	TGCCTGTCCCAGGCCACCG	85	340
947	966	502548	CTGCCTGTCCCAGGCCACC	89	341
948	967	502549	GCTGCCTGTCCCAGGCCAC	91 91	342
949	968	502550	AGTGCCTGTCCCAGGCCCA	94	343
950	969	502551	TAGTGCCTGTCCCAGGCC	92	344
951	970	502552	GTAGTGCCTGTCCCAGGCC	88	345
952	971	502553	CGTAGTGCCTGTCCCAGGC	85	346
953	972	502554	CCGTAGTGCCTGTCCCAGG	83	347
954	973	502555	CCCGTAGTGCCTGTCCCAG	64	348
955	974	502556	GCCCGTAGTGCCTGTCCCA	83	349

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
956	975	502557	GGCCCGTAGCTGCCTGTCCC	89	350
1004	1023	502558	TAGAACATTTTCATAGGCGAA	68	351
1042	1061	502559	TCTCCGCCGTGGAATCCGCG	75	352
1043	1062	502560	GTCTCCGCCGTGGAATCCGC	79	353
1044	1063	502561	GGTCTCCGCCGTGGAATCCG	66	354
1045	1064	502562	AGGTCTCCGCCGTGGAATCC	50	355
1046	1065	502563	TAGGTCTCCGCCGTGGAATC	71	356
1067	1086	502564	TTGTAGTGGACGATCTTGCC	68	357
1068	1087	502565	CTTGTAGTGGACGATCTTGC	70	358
1069	1088	502566	CCTTGTAGTGGACGATCTTG	61	359
1070	1089	502567	TCCTTGTAGTGGACGATCTT	72	360
1071	1090	502568	CTCCTTGTAGTGGACGATCT	75	361
1072	1091	502569	GCTCCTTGTAGTGGACGATC	75	362
1073	1092	502570	TGCTCCTTGTAGTGGACGAT	83	363
1074	1093	502571	GTGCTCCTTGTAGTGGACGA	72	364
1075	1094	502572	GGTGCTCCTTGTAGTGGACG	66	365
1076	1095	502573	AGGTGCTCCTTGTAGTGGAC	51	366
1077	1096	502574	GAGGTGCTCCTTGTAGTGGA	46	367
1078	1097	502575	AGAGGTGCTCCTTGTAGTGG	70	368
1079	1098	502576	GAGAGGTGCTCCTTGTAGTG	47	369
1080	1099	502577	AGAGAGGTGCTCCTTGTAGT	65	370
1081	1100	502578	GAGAGAGGTGCTCCTTGTAG	45	371
1082	1101	502579	AGAGAGAGGTGCTCCTTGTA	63	372
1083	1102	502580	CAGAGAGAGGTGCTCCTTGT	77	373
1085	1104	502581	GGCAGAGAGAGGTGCTCCTT	70	374
1086	1105	502582	CGGCAGAGAGAGGTGCTCCT	80	375
1087	1106	502583	GCGGCAGAGAGAGGTGCTCC	62	376
1088	1107	502584	AGCGGCAGAGAGAGGTGCTC	44	377
1089	1108	502585	CAGCGGCAGAGAGAGGTGCT	78	378
1090	1109	502586	CCAGCGGCAGAGAGAGGTGC	71	379
1165	1184	502587	GGCCCAGCCGTGTCTCCGGG	77	380
1166	1185	502588	CGGCCAGCCGTGTCTCCGG	69	381
1167	1186	502589	CCGGCCCAGCCGTGTCTCCG	70	382
1168	1187	502590	CCCGCCCAGCCGTGTCTCC	75	383
1169	1188	502591	CCCCGGCCCAGCCGTGTCTC	77	384
1170	1189	502592	ACCCCGGCCAGCCGTGTCT	73	385
1171	1190	502593	CACCCCGGCCAGCCGTGTCT	84	386
1172	1191	502594	CCACCCCGGCCAGCCGTGT	78	387

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
1173	1192	502595	TCCACCCCGGCCAGCCGTG	71	388
1174	1193	502596	CTCCACCCCGGCCAGCCGT	81	389
1175	1194	502597	GCTCCACCCCGGCCAGCCG	86	390
1176	1195	502598	TGCTCCACCCCGGCCAGCC	83	391
1177	1196	502599	CTGCTCCACCCCGGCCAGC	88	392
1199	1218	502600	AAGGGATGTGTCCGGAAGTC	60	393
1200	1219	502601	GAAGGGATGTGTCCGGAAGT	58	394
1201	1220	502602	AGAAGGGATGTGTCCGGAAG	63	395
1202	1221	502603	AAGAAGGGATGTGTCCGGAA	62	396
1203	1222	502604	GAAGAAGGGATGTGTCCGGA	61	397
1204	1223	502605	AGAAGAAGGGATGTGTCCGG	62	398
1205	1224	502606	AAGAAGAAGGGATGTGTCCG	56	399
1206	1225	502607	AAAGAAGAAGGGATGTGTCC	58	400
1207	1226	502608	CAAAGAAGAAGGGATGTGTTC	50	401
1208	1227	502609	CAAAGAAGAAGGGATGTGT	61	402
1210	1229	502610	GGCCAAAGAAGAAGGGATGT	73	403
1211	1230	502611	AGGCCAAAGAAGAAGGGATG	56	404
1212	1231	502612	GAGGCCAAAGAAGAAGGGAT	73	405
1213	1232	502613	CGAGGCCAAAGAAGAAGGGA	75	406
1214	1233	502614	TCGAGGCCAAAGAAGAAGGG	75	407
1215	1234	502615	GTCGAGGCCAAAGAAGAAGG	83	408
1216	1235	502616	AGTCGAGGCCAAAGAAGAAG	58	409
1217	1236	502617	CAGTCGAGGCCAAAGAAGAA	52	410
1218	1237	502618	CCAGTCGAGGCCAAAGAAGA	68	411
1219	1238	502619	CCCAGTCGAGGCCAAAGAAG	78	412
1220	1239	502620	TCCCAGTCGAGGCCAAAGAA	66	413
1221	1240	502621	ATCCCAGTCGAGGCCAAAGA	75	414
1222	1241	502622	CATCCCAGTCGAGGCCAAAG	70	415
1223	1242	502623	CCATCCCAGTCGAGGCCAAA	81	416
1224	1243	502624	ACCATCCCAGTCGAGGCCAA	82	417
1225	1244	502625	GACCATCCCAGTCGAGGCCA	88	418
1226	1245	502626	AGACCATCCCAGTCGAGGCC	79	419
1227	1246	502627	GAGACCATCCCAGTCGAGGC	82	420
1228	1247	502628	GGAGACCATCCCAGTCGAGG	60	421
1263	1282	502629	TTCGAAATCCGGTGTAAGG	84	422
1264	1283	502630	CTTCGAAATCCGGTGTAAG	57	423
1265	1284	502631	CCTTCGAAATCCGGTGTAAG	64	424
1266	1285	502632	ACCTTCGAAATCCGGTGTAAG	73	425

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
1267	1286	502633	CACCTTCGAAATCCGGTGTA	77	426
1268	1287	502634	GCACCTTCGAAATCCGGTGT	59	427
1269	1288	502635	GGCACCTTCGAAATCCGGTG	85	428
1270	1289	502636	TGGCACCTTCGAAATCCGGT	86	429
1271	1290	502637	GTGGCACCTTCGAAATCCGG	74	430
1272	1291	502638	GGTGGCACCTTCGAAATCCG	79	431
1273	1292	502639	CGGTGGCACCTTCGAAATCC	85	432
1274	1293	502640	TCGGTGGCACCTTCGAAATC	71	433
1275	1294	502641	GTCGGTGGCACCTTCGAAAT	88	434
1276	1295	502642	TGTCGGTGGCACCTTCGAAA	89	435
1277	1296	502643	GTGTGGTGGCACCTTCGAA	88	436
1278	1297	502644	TGTGTGGTGGCACCTTCGA	87	437
1279	1298	502645	ATGTGTGGTGGCACCTTCG	88	438
1280	1299	502646	CATGTGTGGTGGCACCTTC	88	439
1281	1300	502647	GCATGTGTGGTGGCACCTT	91	440
1282	1301	502648	TGCATGTGTGGTGGCACCT	87	441
1283	1302	502649	TTGCATGTGTGGTGGCAC	86	442
1284	1303	502650	GTTGCATGTGTGGTGGCAC	83	443
1285	1304	502651	AGTTGCATGTGTGGTGGCA	81	444
1286	1305	502652	AAGTTGCATGTGTGGTGGC	79	445
1287	1306	502653	GAAGTTGCATGTGTGGTGG	58	446
1288	1307	502654	CGAAGTTGCATGTGTGGTG	85	447
1290	1309	502655	GTCGAAGTTGCATGTGTGG	77	448
1291	1310	502656	AGTCGAAGTTGCATGTGTGG	79	449
1292	1311	502657	AAGTCGAAGTTGCATGTGTG	74	450
1293	1312	502658	CAAGTCGAAGTTGCATGTGT	82	451
1294	1313	502659	CCAAGTCGAAGTTGCATGTG	82	452
1295	1314	502660	ACCAAGTCGAAGTTGCATGT	70	453
1296	1315	502661	CACCAAGTCGAAGTTGCATG	76	454
1297	1316	502662	CCACCAAGTCGAAGTTGCAT	79	455
1298	1317	502663	TCCACCAAGTCGAAGTTGCA	68	456
1299	1318	502664	CTCCACCAAGTCGAAGTTGC	71	457
1300	1319	502665	CCTCCACCAAGTCGAAGTTG	67	458
1301	1320	502666	TCCTCCACCAAGTCGAAGTT	70	459
1302	1321	502667	GTCCTCCACCAAGTCGAAGT	80	460
1303	1322	502668	CGTCCTCCACCAAGTCGAAG	76	461
1304	1323	502669	CCGTCTCCACCAAGTCGAA	78	462
1305	1324	502670	CCCGTCTCCACCAAGTCGA	83	463

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
1306	1325	502671	GCCCGTCCTCCACCAAGTCG	76	464
1307	1326	502672	AGCCCGTCCTCCACCAAGTC	72	465
1308	1327	502673	GAGCCCGTCCTCCACCAAGT	71	466
1309	1328	502674	TGAGCCCGTCCTCCACCAAG	60	467
1702	1721	502675	GGTTCCGAGCCTCTGCCTCG	44	468
1703	1722	502676	CGGTTCCGAGCCTCTGCCTC	74	469
1704	1723	502677	CCGTTCCGAGCCTCTGCCT	72	470
1705	1724	502678	CCCGTTCCGAGCCTCTGCC	73	471
1706	1725	502679	TCCCGTTCCGAGCCTCTGC	84	472
1707	1726	502680	GTCCCGTTCCGAGCCTCTG	66	473
1709	1728	502681	AGGTCCCGTTCCGAGCCTC	82	474
1710	1729	502682	TAGGTCCCGTTCCGAGCCT	83	475
1711	1730	502683	CTAGGTCCCGTTCCGAGCC	81	476
1712	1731	502684	TCTAGGTCCCGTTCCGAGC	74	477
1713	1732	502685	CTCTAGGTCCCGTTCCGAG	78	478
1714	1733	502686	CCTCTAGGTCCCGTTCCGA	75	479
1715	1734	502687	GCCTCTAGGTCCCGTTCCG	80	480
1743	1762	502688	CATCCGCTCCTGCAACTGCC	89	481
1744	1763	502689	CCATCCGCTCCTGCAACTGC	81	482
1745	1764	502690	TCCATCCGCTCCTGCAACTG	71	483
1746	1765	502691	CTCCATCCGCTCCTGCAACT	75	484
1747	1766	502692	ACTCCATCCGCTCCTGCAAC	64	485
1748	1767	502693	AACTCCATCCGCTCCTGCAA	52	486
1749	1768	502694	CAACTCCATCCGCTCCTGCA	45	487
1751	1770	502695	AGCAACTCCATCCGCTCCTG	78	488
1752	1771	502696	CAGCAACTCCATCCGCTCCT	64	489
1753	1772	502697	GCAGCAACTCCATCCGCTCC	56	490
1774	1793	502698	CAGCTGTGGCTCCCTCTGCC	60	491
1775	1794	502699	ACAGCTGTGGCTCCCTCTGC	45	492
1776	1795	502700	GACAGCTGTGGCTCCCTCTG	49	493
1777	1796	502701	TGACAGCTGTGGCTCCCTCT	26	494
1778	1797	502702	GTGACAGCTGTGGCTCCCTC	32	495
1779	1798	502703	CGTGACAGCTGTGGCTCCCT	28	496
1780	1799	502704	CCGTGACAGCTGTGGCTCCC	35	497
1781	1800	502705	CCCGTGACAGCTGTGGCTCC	33	498
1782	1801	502706	CCCCGTGACAGCTGTGGCTC	53	499
1783	1802	502707	CCCCCGTGACAGCTGTGGCT	39	500
1784	1803	502708	ACCCCCGTGACAGCTGTGGC	53	501

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
1785	1804	502709	GACCCCCGTGACAGCTGTGG	51	502
1786	1805	502710	GGACCCCCGTGACAGCTGTG	58	503
1787	1806	502711	GGGACCCCCGTGACAGCTGT	71	504
1814	1833	502712	GAAGGTGGATCCGTGGCCCG	73	505
1815	1834	502713	GGAAGGTGGATCCGTGGCCC	70	506
1816	1835	502714	GGGAAGGTGGATCCGTGGCC	72	507
1817	1836	502715	TGGGAAGGTGGATCCGTGGC	50	508
1818	1837	502716	ATGGGAAGGTGGATCCGTGG	62	509
1819	1838	502717	GATGGGAAGGTGGATCCGTG	75	510
1821	1840	502718	TAGATGGGAAGGTGGATCCG	52	511
1822	1841	502719	CTAGATGGGAAGGTGGATCC	56	512
1823	1842	502720	TCTAGATGGGAAGGTGGATC	21	513
1824	1843	502721	ATCTAGATGGGAAGGTGGAT	34	514
1826	1845	502722	CCATCTAGATGGGAAGGTGG	43	515
1827	1846	502723	GCCATCTAGATGGGAAGGTG	17	516
1828	1847	451383	GGCCATCTAGATGGGAAGGT	0	517
1863	1882	502724	CACCAGCGGGCACTGGCCCA	51	518
1864	1883	502725	CCACCAGCGGGCACTGGCCC	55	519
1865	1884	502726	CCCACCAGCGGGCACTGGCC	61	520
1866	1885	502727	CCCACCAGCGGGCACTGGC	43	521
1868	1887	502728	GGCCCCACCAGCGGGCACTG	16	522
1869	1888	502729	TGGCCCCACCAGCGGGCACT	43	523
1870	1889	502730	CTGGCCCCACCAGCGGGCAC	43	524
1871	1890	502731	CCTGGCCCCACCAGCGGGCA	41	525
1872	1891	502732	GCCTGGCCCCACCAGCGGGC	30	526
1874	1893	502733	GGGCCTGGCCCCACCAGCGG	66	527
1892	1911	502734	AGGTGGCGGCGGTGCATGGG	31	528
1893	1912	502735	CAGGTGGCGGCGGTGCATGG	23	529
1894	1913	502736	GCAGGTGGCGGCGGTGCATG	57	530
1895	1914	502737	AGCAGGTGGCGGCGGTGCAT	54	531
1896	1915	502738	CAGCAGGTGGCGGCGGTGCA	61	532
1897	1916	502739	GCAGCAGGTGGCGGCGGTGC	57	533
1898	1917	502740	AGCAGCAGGTGGCGGCGGTG	36	534
1899	1918	502741	GAGCAGCAGGTGGCGGCGGT	53	535
1900	1919	502742	GGAGCAGCAGGTGGCGGCGG	39	536
1901	1920	502743	GGGAGCAGCAGGTGGCGGCG	36	537
1902	1921	502744	AGGGAGCAGCAGGTGGCGGC	62	538
1903	1922	502745	CAGGGAGCAGCAGGTGGCGG	56	539

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
1904	1923	502746	GCAGGGAGCAGCAGGTGGCG	58	540
1905	1924	502747	GGCAGGGAGCAGCAGGTGGC	65	541
1906	1925	502748	TGGCAGGGAGCAGCAGGTGG	47	542
1907	1926	502749	CTGGCAGGGAGCAGCAGGTG	41	543
1909	1928	451432	CCCTGGCAGGGAGCAGCAGG	53	544
1910	1929	502750	ACCCTGGCAGGGAGCAGCAG	52	545
1911	1930	502751	GACCCTGGCAGGGAGCAGCA	77	546
1912	1931	502752	GGACCCTGGCAGGGAGCAGC	0	547
1919	1938	502753	GGCCTAGGGACCCTGGCAGG	39	548
1920	1939	502754	AGGCCTAGGGACCCTGGCAG	35	549
1922	1941	502755	CCAGGCCTAGGGACCCTGGC	44	550
1923	1942	502756	GCCAGGCCTAGGGACCCTGG	60	551
1924	1943	502757	GGCCAGGCCTAGGGACCCTG	58	552
1925	1944	502758	AGGCCAGGCCTAGGGACCCT	57	553
1926	1945	502759	TAGGCCAGGCCTAGGGACCC	52	554
1927	1946	502760	ATAGGCCAGGCCTAGGGACC	51	555
1928	1947	502761	GATAGGCCAGGCCTAGGGAC	41	556
1929	1948	502762	CGATAGGCCAGGCCTAGGGA	69	557
1930	1949	502763	CCGATAGGCCAGGCCTAGGG	80	558
1931	1950	502764	TCCGATAGGCCAGGCCTAGG	78	559
1932	1951	502765	CTCCGATAGGCCAGGCCTAG	89	560
1933	1952	502766	CCTCCGATAGGCCAGGCCTA	79	561
1934	1953	502767	GCCTCCGATAGGCCAGGCCT	73	562
1936	1955	502768	GCGCCTCCGATAGGCCAGGC	83	563
1952	1971	502769	AACAGGAGCAGGGAAAGCGC	83	564
1953	1972	502770	GAACAGGAGCAGGGAAAGCG	70	565
1954	1973	502771	CGAACAGGAGCAGGGAAAGC	43	566
1955	1974	502772	GCGAACAGGAGCAGGGAAAG	47	567
1956	1975	502773	GGCGAACAGGAGCAGGGAAA	61	568
1957	1976	502774	CGGCGAACAGGAGCAGGGAA	74	569
1958	1977	502775	ACGGCGAACAGGAGCAGGGGA	60	570
1959	1978	502776	AACGGCGAACAGGAGCAGGG	86	571
1960	1979	502777	CAACGGCGAACAGGAGCAGG	84	572
1981	2000	502778	GGGCGGCGGCACGAGACAGA	80	573
1982	2001	502779	AGGGCGGCGGCACGAGACAG	76	574
1983	2002	502780	CAGGGCGGCGGCACGAGACA	58	575
1984	2003	502781	CCAGGGCGGCGGCACGAGAC	80	576
1985	2004	502782	CCCAGGGCGGCGGCACGAGA	59	577

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
1986	2005	502783	GCCCAGGGCGGCGGCACGAG	68	578
1987	2006	502784	AGCCCAGGGCGGCGGCACGA	75	579
1988	2007	502785	CAGCCCAGGGCGGCGGCACG	76	580
1989	2008	502786	GCAGCCCAGGGCGGCGGCAC	70	581
2026	2045	502787	CTGCGGTGAGTTGGCCGGCG	68	582
2027	2046	502788	ACTGCGGTGAGTTGGCCGGC	67	583
2028	2047	502789	GACT GCGGTGAGTT GGCCGG	58	584
2029	2048	502790	AGACTGCGGTGAGTTGGCCG	71	585
2030	2049	502791	CAGACTGCGGTGAGTTGGCC	70	586
2031	2050	502792	CCAGACTGCGGTGAGTTGGC	79	587
2032	2051	502793	GCCAGACTGCGGTGAGTTGG	76	588
2033	2052	502794	CGCCAGACTGCGGTGAGTTG	66	589
2077	2096	502795	AAGACAGTTCTAGGGTTCAG	87	590
2078	2097	502796	GAAGACAGTTCTAGGGTTCA	78	591
2079	2098	502797	CGAAGACAGTTCTAGGGTTC	85	592
2080	2099	502798	TCGAAGACAGTTCTAGGGTT	78	593
2081	2100	502799	GTCGAAGACAGTTCTAGGGT	92	594
2082	2101	502800	AGTCGAAGACAGTTCTAGGG	85	595
2083	2102	502801	GAGTCGAAGACAGTTCTAGG	83	596
2084	2103	502802	GGAGTCGAAGACAGTTCTAG	86	597
2085	2104	502803	CGGAGTCGAAGACAGTTCTA	91	598
2086	2105	502804	CCGGAGTCGAAGACAGTTCT	76	599
2087	2106	502805	CCCGGAGTCGAAGACAGTTC	90	600
2088	2107	502806	CCCCGGAGTCGAAGACAGTT	83	601
2089	2108	502807	GCCCCGGAGTCGAAGACAGT	82	602
2090	2109	502808	GGCCCCGGAGTCGAAGACAG	73	603
2091	2110	502809	GGCCCCGGAGTCGAAGACA	67	604
2143	2162	502810	AGGCGGTGGGCGCGGCTTCT	73	605
2144	2163	502811	CAGGCGGTGGGCGCGGCTTC	57	606
2145	2164	502812	GCAGGCGGTGGGCGCGGCTT	69	607
2147	2166	502813	TGGCAGGCGGTGGGCGCGGC	73	608
2149	2168	502814	ACTGGCAGGCGGTGGGCGCG	56	609
2151	2170	502815	GAAGTGGCAGGCGGTGGGCG	71	610
2152	2171	502816	TGAACTGGCAGGCGGTGGGC	80	611
2154	2173	502817	TGTGAACTGGCAGGCGGTGG	85	612
2187	2206	502818	TGGAGCTGGGCGGAGACCCA	55	613
2189	2208	502819	ACTGGAGCTGGGCGGAGACC	53	614
2190	2209	502820	GACTGGAGCTGGGCGGAGAC	55	615
2192	2211	502821	AGGACTGGAGCTGGGCGGAG	76	616
2194	2213	502822	ACAGGACTGGAGCTGGGCGG	77	617
2195	2214	502823	CACAGGACTGGAGCTGGGCG	74	618
2196	2215	502824	TCACAGGACTGGAGCTGGGC	90	619
2386	2405	502825	GCCTCAGCCTGGCCGAAAGA	80	620
2387	2406	502826	GGCCTCAGCCTGGCCGAAAG	72	621
2490	2509	444401	TTGCACTTTGCGAACCAACG	97	41

ES 2 756 326 T3

Tabla 13: Inhibición de la transcripción de ARN DMPK humano en hSKMc por 5-10-5 gapmers que se dirigen a la SEQ ID NO: 2

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
503	522	502983	TGGTGGAGCCAAGCCCTCCC	83	622
561	580	502984	GGGCACCCTCAGAGCCTGAA	82	623
1197	1216	502369	GCCTGGCAGCCCCTGTCCAG	16	160
1198	1217	502370	GGCCTGGCAGCCCCTGTCCA	58	161
1199	1218	502371	GGGCCTGGCAGCCCCTGTCC	62	162
1242	1261	502372	ATGGCCCCCTCCCCGGGCCGG	41	163
1243	1262	502373	CATGGCCCCCTCCCCGGGCCG	29	164
1244	1263	502374	CCATGGCCCCCTCCCCGGGCC	34	165
1245	1264	502375	ACCATGGCCCCCTCCCCGGGC	60	166
1246	1265	502376	CACCATGGCCCCCTCCCCGGG	68	167
1247	1266	502377	GCACCATGGCCCCCTCCCCGG	75	168
1248	1267	502378	AGCACCATGGCCCCCTCCCCG	65	169
1249	1268	502379	CAGCACCATGGCCCCCTCCCC	63	170
1250	1269	502380	GCAGCACCATGGCCCCCTCCC	73	171
1251	1270	502381	GGCAGCACCATGGCCCCCTCC	80	172
1253	1272	502382	CAGGCAGCACCATGGCCCCT	82	173
1254	1273	502383	ACAGGCAGCACCATGGCCCC	72	174
1256	1275	502384	GGACAGGCAGCACCATGGCC	70	175
1257	1276	502385	TGGACAGGCAGCACCATGGC	71	176
1258	1277	502386	TTGGACAGGCAGCACCATGG	73	177
1259	1278	502387	GTTGGACAGGCAGCACCATG	73	178
1260	1279	502388	TGTTGGACAGGCAGCACCAT	60	179
1261	1280	502389	ATGTTGGACAGGCAGCACCA	75	180
1262	1281	502390	CATGTTGGACAGGCAGCACC	81	181
1263	1282	502391	ACATGTTGGACAGGCAGCAC	67	182
1264	1283	502392	GACATGTTGGACAGGCAGCA	71	183
1265	1284	502393	TGACATGTTGGACAGGCAGC	81	184

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
1266	1285	502394	CTGACATGTTGGACAGGCAG	76	185
1267	1286	502395	GCTGACATGTTGGACAGGCA	70	186
1268	1287	502396	GGCTGACATGTTGGACAGGC	77	187
1269	1288	502397	CGGCTGACATGTTGGACAGG	74	188
1270	1289	502398	TCGGCTGACATGTTGGACAG	63	189
1271	1290	502399	CTCGGCTGACATGTTGGACA	80	190
1272	1291	502400	CCTCGGCTGACATGTTGGAC	71	191
1273	1292	502401	ACCTCGGCTGACATGTTGGA	64	192
1274	1293	502402	CACCTCGGCTGACATGTTGG	71	193
1275	1294	502403	GCACCTCGGCTGACATGTTG	77	194
1276	1295	502404	CGCACCTCGGCTGACATGTT	80	195
1277	1296	502405	CCGCACCTCGGCTGACATGT	80	196
1278	1297	502406	GCCGCACCTCGGCTGACATG	79	197
1279	1298	502407	AGCCGCACCTCGGCTGACAT	74	198
1280	1299	502408	CAGCCGCACCTCGGCTGACA	66	199
1281	1300	502409	TCAGCCGCACCTCGGCTGAC	15	200
1282	1301	502410	CTCAGCCGCACCTCGGCTGA	32	201
1283	1302	502411	CCTCAGCCGCACCTCGGCTG	65	202
1284	1303	502412	GCCTCAGCCGCACCTCGGCT	81	203
1305	1324	502413	CCAACACCAGCTGCTGGAGC	90	204
1306	1325	502414	TCCAACACCAGCTGCTGGAG	78	205
1307	1326	502415	GTCCAACACCAGCTGCTGGA	84	206
1309	1328	502416	GGGTCCAACACCAGCTGCTG	69	207
1330	1349	502417	GGCTCCAGCCCCAGGAAGCC	46	208
1331	1350	502418	GGGCTCCAGCCCCAGGAAGC	28	209
1349	1368	502419	CAGGAGAAGGTCGAGCAGGG	41	210
1351	1370	502420	CCCAGGAGAAGGTCGAGCAG	71	211
1352	1371	502421	GCCCAGGAGAAGGTCGAGCA	85	212
1353	1372	451363	CGCCCAGGAGAAGGTCGAGC	84	213
1354	1373	502422	ACGCCAGGAGAAGGTCGAG	67	214
1390	1409	502423	TCCTGGGCCAGTTCGGAGGC	58	215
1391	1410	502424	GTCCTGGGCCAGTTCGGAGG	71	216
1392	1411	502425	TGTCCTGGGCCAGTTCGGAG	69	217
1393	1412	502426	TTGTCCTGGGCCAGTTCGGA	71	218
1394	1413	502427	CTTGTCCTGGGCCAGTTCGG	66	219
1395	1414	502428	ACTTGTCCTGGGCCAGTTCG	59	220
1396	1415	502429	TACTTGTCCTGGGCCAGTTC	75	221
1397	1416	502430	GTACTTGTCCTGGGCCAGTT	78	222

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
1398	1417	502431	CGTACTTGTCCTGGGCCAGT	74	223
1416	1435	502432	ACTGCAAGAAGTCGGCCACG	73	224
1418	1437	502433	CCACTGCAAGAAGTCGGCCA	65	225
1419	1438	451364	CCCCTGCAAGAAGTCGGCC	32	226
1421	1440	502985	ACCCCTGCAAGAAGTCGG	60	624
1551	1570	502986	GCCCCAGGATGGGAGGATCT	58	625
1597	1616	502987	CATAGGACAGAGAAAATGTTG	70	626
1630	1649	502988	TGCTGACCTTACTCTGCCCC	86	627
1666	1685	502989	TAAGCCATGGCTCTGAGTCA	51	628
1712	1731	502990	AGAGAGGCCATGGGAGGCTG	42	629
1841	1860	502991	CTGGCCCTCCTGGCTTGCCC	72	630
1853	1872	502992	AGCTGCCCATGCTGGCCCT	76	631
1862	1881	502993	GCCCCTGGCAGCTGCCCAT	70	632
1873	1892	502994	CTGTCGGCTGCGCCCTGGC	78	633
1887	1906	502995	CGCCGAACACCTGCCTGTCCG	68	634
1931	1950	502996	CCTCCCAGTGCCTGGGCACC	52	635
1981	2000	502998	GCGCCTGTCTGCAAAGCTGG	84	636
2025	2044	502999	CCCAAAGTTGTCCCTCCTGG	83	637
2038	2057	503000	ACACCCAGAAGAACCCTAAAG	75	638
2117	2136	503001	CTGACCCACACGGCTCATAG	65	639
2235	2254	503002	TGGCCCCAGGCCCTGGAAG	67	640
2278	2297	503003	GACAAGGCAGCTGGCAGAAG	79	641
2331	2350	503004	AAGAAACCAGTGACCAGTGA	85	642
2523	2542	503005	CTGTGAAATGGGAGGAGGAG	0	643
2578	2597	503006	GAAGGTTTTCCAGAGGCTG	88	644
2615	2634	503007	GGCCAGGAGAGTCATTAGGG	84	645
2710	2729	503008	CCACAAAAGGAGTGCTCCTC	79	646
2789	2808	503009	CCTTTTAAGGCAGCAGGAAC	78	647
3629	3648	503010	CTAGGACTGTCTGCTTCCCA	88	648
3761	3780	502452	CTCACCACGATGGGCTCCGC	66	245
3762	3781	502453	CCTCACCACGATGGGCTCCG	81	246
3763	3782	502454	GCCTCACCACGATGGGCTCC	77	247
3764	3783	502455	AGCCTCACCACGATGGGCTC	63	248
3765	3784	502456	AAGCCTCACCACGATGGGCT	70	249
3766	3785	502457	TAAGCCTCACCACGATGGGC	78	250
3767	3786	502458	TTAAGCCTCACCACGATGGG	76	251
3768	3787	502459	CCTAAGCCTCACCACGATGG	78	252
3769	3788	502460	CCTAAGCCTCACCACGATG	68	253

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
3770	3789	502461	TCCTTAAGCCTCACCACGAT	67	254
3771	3790	502462	CTCCTTAAGCCTCACCACGA	84	255
3772	3791	502463	CCTCCTTAAGCCTCACCACG	76	256
3773	3792	502464	ACCTCCTTAAGCCTCACCAC	64	257
3774	3793	502465	GACCTCCTTAAGCCTCACCA	72	258
3775	3794	502466	GGACCTCCTTAAGCCTCACC	69	259
3776	3795	502467	CGGACCTCCTTAAGCCTCAC	81	260
3777	3796	502468	TCGGACCTCCTTAAGCCTCA	78	261
3778	3797	502469	GTCGGACCTCCTTAAGCCTC	57	262
3780	3799	502470	CAGTCGGACCTCCTTAAGCC	62	263
3781	3800	502471	GCAGTCGGACCTCCTTAAGC	45	264
3782	3801	502472	TGCAGTCGGACCTCCTTAAG	60	265
3808	3827	502473	CCTTCAGAATCTCGAAGTCG	67	266
3809	3828	502474	ACCTTCAGAATCTCGAAGTC	50	267
3811	3830	502475	TCACCTTCAGAATCTCGAAG	54	268
3812	3831	502476	ATCACCTTCAGAATCTCGAA	38	269
3813	3832	502477	GATCACCTTCAGAATCTCGA	35	270
3815	3834	502478	CCGATCACCTTCAGAATCTC	52	271
3816	3835	502479	TCCGATCACCTTCAGAATCT	50	272
3817	3836	502480	GTCCGATCACCTTCAGAATC	44	273
3818	3837	502481	CGTCCGATCACCTTCAGAAT	41	274
3921	3940	503011	GTCATTCATCAATTTCTAAG	44	649
4118	4137	502482	CCCGTCTGCTTCATCTTCA	67	275
4119	4138	502483	GCCCGTCTGCTTCATCTTCA	76	276
4120	4139	502484	GGCCCGTCTGCTTCATCTT	57	277
4121	4140	502485	TGGCCCGTCTGCTTCATCTT	64	278
4122	4141	502486	CTGGCCCGTCTGCTTCATCT	64	279
4123	4142	502487	CCTGGCCCGTCTGCTTCATC	73	280
4124	4143	502488	ACCTGGCCCGTCTGCTTCAT	64	281
4125	4144	502489	CACCTGGCCCGTCTGCTTCA	80	282
4126	4145	502490	ACACCTGGCCCGTCTGCTTC	71	283
4127	4146	502491	TACACCTGGCCCGTCTGCTT	74	284
4148	4167	502492	TTGTTTCATGATCTTCATGGC	56	285
4150	4169	502493	ACTTGTTTCATGATCTTCATG	23	286
4151	4170	502494	CACCTTGTTTCATGATCTTCAT	43	287
4152	4171	502495	CCACTTGTTTCATGATCTTCA	43	288
4153	4172	502496	CCCCTTGTTTCATGATCTTC	47	289
4154	4173	502497	TCCCACTTGTTTCATGATCTT	34	290

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
4155	4174	502498	GTCCCCTTGTTTCATGATCT	34	291
4156	4175	502499	TGTCCCCTTGTTTCATGATC	27	292
4157	4176	502500	ATGTCCCCTTGTTTCATGAT	23	293
4158	4177	502501	CATGTCCCCTTGTTTCATGA	51	294
4159	4178	502502	GCATGTCCCCTTGTTTCATG	20	295
4160	4179	502503	AGCATGTCCCCTTGTTTCAT	52	296
4161	4180	502504	CAGCATGTCCCCTTGTTCA	72	297
4162	4181	502505	TCAGCATGTCCCCTTGTTTC	70	298
4163	4182	502506	TTCAGCATGTCCCCTTGTT	53	299
4164	4183	502507	CTTCAGCATGTCCCCTTGTT	52	300
4165	4184	502508	TCTTCAGCATGTCCCCTTG	45	301
4167	4186	502509	CCTCTTCAGCATGTCCCCT	68	302
4168	4187	502510	CCCTCTTCAGCATGTCCCAC	68	303
4169	4188	502511	CCCCTCTTCAGCATGTCCCA	79	304
4170	4189	502512	GCCCCTCTTCAGCATGTCCC	85	305
4171	4190	502513	CGCCCCTCTTCAGCATGTCC	84	306
4172	4191	502514	TCGCCCCTCTTCAGCATGTC	80	307
4173	4192	502515	CTCGCCCCTCTTCAGCATGT	82	308
4174	4193	502516	CCTCGCCCCTCTTCAGCATG	78	309
4175	4194	502517	ACCTCGCCCCTCTTCAGCAT	73	310
4176	4195	502518	CACCTCGCCCCTCTTCAGCA	76	311
4239	4258	503012	GGAGGAGCTGCAGCCGGAGA	7.7	650
4245	4264	503013	GCACCCGGAGGAGCTGCAGC	0	651
4261	4280	503014	GCACGACACCTGCAGGGCAC	23	652
4355	4374	503015	AGCTCACCAGGTAGTTCTCA	49	653
4427	4446	503016	GCTTCCTCTCCCCACCTCCT	65	654
4447	4466	503017	GCAGCACCCCAATCCTAGA	67	655
4508	4527	503018	GCCCCTCATCCACCTGACAC	62	656
4613	4632	503019	TTCCAGGTAAGAGACCCCCC	87	657
4679	4698	503020	AGAATAGGTCCCAGACACTC	81	658
4731	4750	503021	CTCCCCCTGAGATGTTCTGG	53	659
4858	4877	503022	CCCCAGCCCAGAGATAACCA	74	660
4927	4946	503023	CCTGATCCATCACGGATGGC	69	661
4987	5006	503024	TACTCCATGACCAGGTAAGT	81	662
5185	5204	503025	GCTCTGACCTTCCAAGAACC	56	663
5354	5373	503026	CTCCCTTCTGTGGTCCCACC	0	664
5407	5426	503027	GTCGGGTTTGTATGTCCTGC	75	665
5445	5464	502521	GCCAGGCGGATGTGGCCACA	57	314

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
5500	5519	503028	AGGGCACTGGCTCACCGTTC	45	666
5681	5700	503029	GGGCCCTCCTTCCAACCACT	28	667
5708	5727	503030	GCCACCCCTCTGGGCCAC	45	668
5728	5747	503031	AGGAGCAGAGCGAGGCTTGG	38	669
5800	5819	502524	ACAGCCTGCAGGATCTCGGG	86	317
5801	5820	502525	CACAGCCTGCAGGATCTCGG	81	318
5802	5821	502526	CCACAGCCTGCAGGATCTCG	83	319
5803	5822	502527	CCCACAGCCTGCAGGATCTC	84	320
5804	5823	502528	GCCACAGCCTGCAGGATCT	91	321
5805	5824	502529	CGCCACAGCCTGCAGGATC	90	322
5806	5825	502530	CGCCACAGCCTGCAGGAT	82	323
5807	5826	502531	ACCGCCACAGCCTGCAGGA	83	324
5808	5827	502532	CACCGCCACAGCCTGCAGG	85	325
5809	5828	502533	CCACCGCCACAGCCTGCAG	84	326
5810	5829	502534	CCCACCGCCACAGCCTGCA	80	327
5811	5830	502535	GCCACCGCCACAGCCTGC	90	328
5812	5831	502536	GGCCACCGCCACAGCCTG	94	329
5813	5832	502537	AGGCCACCGCCACAGCCT	88	330
5814	5833	502538	CAGGCCACCGCCACAGCC	91	331
5815	5834	502539	CCAGGCCACCGCCACAGC	73	332
5816	5835	502540	CCCAGGCCACCGCCACAG	86	333
5817	5836	502541	TCCAGGCCACCGCCACA	88	334
5818	5837	502542	GTCCAGGCCACCGCCAC	84	335
5819	5838	502543	TGTCCAGGCCACCGCCA	85	336
5820	5839	502544	CTGTCCAGGCCACCGCC	65	337
5821	5840	502545	CCTGTCCAGGCCACCGCC	81	338
5822	5841	502546	GCCTGTCCAGGCCACCGC	90	339
5823	5842	502547	TGCCTGTCCAGGCCACCG	85	340
5824	5843	502548	CTGCCTGTCCAGGCCACC	89	341
5825	5844	502549	GCTGCCTGTCCAGGCCAC	91	342
5826	5845	502550	AGTGCCTGTCCAGGCCA	94	343
5827	5846	502551	TAGTGCCTGTCCAGGCC	92	344
5828	5847	502552	GTAGTGCCTGTCCAGGCC	88	345
5829	5848	502553	CGTAGTGCCTGTCCAGGC	85	346
5830	5849	502554	CCGTAGTGCCTGTCCAGG	83	347
5831	5850	502555	CCGTAGTGCCTGTCCAG	64	348
5832	5851	502556	GCCGTAGTGCCTGTCCA	83	349
5833	5852	502557	GGCCGTAGTGCCTGTCC	89	350

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
5881	5900	502558	TAGAACATTTTCATAGGCGAA	68	351
5919	5938	502559	TCTCCGCCGTGGAATCCGCG	75	352
5920	5939	502560	GTCTCCGCCGTGGAATCCGC	79	353
5921	5940	502561	GGTCTCCGCCGTGGAATCCG	66	354
5922	5941	502562	AGGTCTCCGCCGTGGAATCC	50	355
5923	5942	502563	TAGGTCTCCGCCGTGGAATC	71	356
5944	5963	502564	TTGTAGTGGACGATCTTGCC	68	357
5945	5964	502565	CTTGTAGTGGACGATCTTGC	70	358
5946	5965	502566	CCTTGTAGTGGACGATCTTG	61	359
5948	5967	503032	CACCTTGTAGTGGACGATCT	62	670
6039	6058	502582	CGGCAGAGAGAGGTTGCTCCT	80	375
6040	6059	502583	GCGGCAGAGAGAGGTTGCTCC	62	376
6041	6060	502584	AGCGGCAGAGAGAGGTTGCTC	44	377
6042	6061	502585	CAGCGGCAGAGAGAGGTTGCT	78	378
6043	6062	502586	CCAGCGGCAGAGAGAGGTTGC	71	379
6118	6137	502587	GGCCCAGCCGTGTCTCCGGG	77	380
6119	6138	502588	CGGCCAGCCGTGTCTCCGG	69	381
6120	6139	502589	CCGGCCCAGCCGTGTCTCCG	70	382
6121	6140	502590	CCCGGCCAGCCGTGTCTCC	75	383
6122	6141	502591	CCCCGGCCCAGCCGTGTCTC	77	384
6123	6142	502592	ACCCCGGCCAGCCGTGTCT	73	385
6124	6143	502593	CACCCGGCCCAGCCGTGTC	84	386
6125	6144	502594	CCACCCCGGCCAGCCGTGT	78	387
6126	6145	502595	TCCACCCCGGCCAGCCGTG	71	388
6127	6146	502596	CTCCACCCCGGCCAGCCGT	81	389
6128	6147	502597	GCTCCACCCCGGCCAGCCG	86	390
6129	6148	502598	TGCTCCACCCCGGCCAGCC	83	391
6130	6149	502599	CTGCTCCACCCCGGCCAGC	88	392
6152	6171	502600	AAGGGATGTGTCCGGAAGTC	60	393
6153	6172	502601	GAAGGGATGTGTCCGGAAGT	58	394
6154	6173	502602	AGAAGGGATGTGTCCGGAAG	63	395
6155	6174	502603	AAGAAGGGATGTGTCCGGA	62	396
6156	6175	502604	GAAGAAGGGATGTGTCCGGA	61	397
6157	6176	502605	AGAAGAAGGGATGTGTCCGG	62	398
6158	6177	502606	AAGAAGAAGGGATGTGTCCG	56	399
6159	6178	502607	AAAGAAGAAGGGATGTGTCC	58	400
6160	6179	502608	CAAAGAAGAAGGGATGTGTCC	50	401
6161	6180	502609	CCAAGAAGAAGGGATGTGT	61	402

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
6163	6182	502610	GGCCAAAGAAGAAGGGATGT	73	403
6164	6183	502611	AGGCCAAAGAAGAAGGGATG	56	404
6165	6184	502612	GAGGCCAAAGAAGAAGGGAT	73	405
6166	6185	502613	CGAGGCCAAAGAAGAAGGGA	75	406
6167	6186	502614	TCGAGGCCAAAGAAGAAGGG	75	407
6168	6187	502615	GTCGAGGCCAAAGAAGAAGG	83	408
6169	6188	502616	AGTCGAGGCCAAAGAAGAAG	58	409
6170	6189	502617	CAGTCGAGGCCAAAGAAGAA	52	410
6171	6190	502618	CCAGTCGAGGCCAAAGAAGA	68	411
6172	6191	502619	CCCAGTCGAGGCCAAAGAAG	78	412
6173	6192	502620	TCCCAGTCGAGGCCAAAGAA	66	413
6174	6193	502621	ATCCCAGTCGAGGCCAAAGA	75	414
6175	6194	502622	CATCCCAGTCGAGGCCAAAG	70	415
6176	6195	502623	CCATCCCAGTCGAGGCCAAA	81	416
6177	6196	502624	ACCATCCCAGTCGAGGCCAA	82	417
6178	6197	502625	GACCATCCCAGTCGAGGCCA	88	418
6179	6198	502626	AGACCATCCCAGTCGAGGCC	79	419
6180	6199	502627	GAGACCATCCCAGTCGAGGC	82	420
6181	6200	502628	GGAGACCATCCCAGTCGAGG	60	421
6216	6235	502629	TTCGAAATCCGGTGTAAGG	84	422
6217	6236	502630	CTTCGAAATCCGGTGTAAG	57	423
6218	6237	502631	CCTTCGAAATCCGGTGTAAG	64	424
6219	6238	502632	ACCTTCGAAATCCGGTGTAAG	73	425
6220	6239	502633	CACCTTCGAAATCCGGTGTA	77	426
6221	6240	502634	GCACCTTCGAAATCCGGTGTA	59	427
6222	6241	502635	GGCACCTTCGAAATCCGGTG	85	428
6223	6242	502636	TGGCACCTTCGAAATCCGGT	86	429
6224	6243	502637	GTGGCACCTTCGAAATCCGG	74	430
6225	6244	502638	GGTGGCACCTTCGAAATCCG	79	431
6226	6245	502639	CGGTGGCACCTTCGAAATCC	85	432
6227	6246	502640	TCGGTGGCACCTTCGAAATC	71	433
6228	6247	502641	GTCGGTGGCACCTTCGAAAT	88	434
6229	6248	502642	TGTCGGTGGCACCTTCGAAA	89	435
6230	6249	502643	GTGTCGGTGGCACCTTCGAA	88	436
6231	6250	502644	TGTGTCGGTGGCACCTTCGA	87	437
6232	6251	502645	ATGTGTCGGTGGCACCTTCG	88	438
6233	6252	502646	CATGTGTCGGTGGCACCTTC	88	439
6234	6253	502647	GCATGTGTCGGTGGCACCTT	91	440

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
6235	6254	502648	TGCATGTGTCGGTGGCACCT	87	441
6236	6255	502649	TTGCATGTGTCGGTGGCACC	86	442
6237	6256	502650	GTTGCATGTGTCGGTGGCAC	83	443
6238	6257	502651	AGTTGCATGTGTCGGTGGCA	81	444
6239	6258	502652	AAGTTGCATGTGTCGGTGGC	79	445
6240	6259	502653	GAAGTTGCATGTGTCGGTGG	58	446
6241	6260	502654	CGAAGTTGCATGTGTCGGTG	85	447
6243	6262	502655	GTCGAAGTTGCATGTGTCGG	77	448
6244	6263	502656	AGTCGAAGTTGCATGTGTCG	79	449
6245	6264	502657	AAGTCGAAGTTGCATGTGTC	74	450
6246	6265	502658	CAAGTCGAAGTTGCATGTGT	82	451
6247	6266	502659	CCAAGTCGAAGTTGCATGTG	82	452
6248	6267	502660	ACCAAGTCGAAGTTGCATGT	70	453
6249	6268	502661	CACCAAGTCGAAGTTGCATG	76	454
6250	6269	502662	CCACCAAGTCGAAGTTGCAT	79	455
6251	6270	502663	TCCACCAAGTCGAAGTTGCA	68	456
6252	6271	502664	CTCCACCAAGTCGAAGTTGC	71	457
6253	6272	502665	CCTCCACCAAGTCGAAGTTG	67	458
6254	6273	502666	TCCTCCACCAAGTCGAAGTT	70	459
6255	6274	502667	GTCCTCCACCAAGTCGAAGT	80	460
6256	6275	502668	CGTCTCCACCAAGTCGAAG	76	461
6257	6276	502669	CCGTCTCCACCAAGTCGAA	78	462
6258	6277	502670	CCCGTCTCCACCAAGTCGA	83	463
6259	6278	502671	GCCCGTCTCCACCAAGTCG	76	464
6260	6279	502672	AGCCCGTCTCCACCAAGTC	72	465
6261	6280	502673	GAGCCCGTCTCCACCAAGT	71	466
6262	6281	502674	TGAGCCCGTCTCCACCAAG	60	467
6289	6308	503033	CTACCCCGCCCCGCTCACC	60	671
6445	6464	503034	CTAGGTCAGTCTGGGTCCT	86	672
6596	6615	503035	CTCAGATAGCTCCCCACTCC	55	673
6794	6813	503036	AATTCTCTAATTCTCTAGAC	19	674
8666	8685	503037	TACCTGAGGGCCATGCAGGA	51	675
8765	8784	503038	GTTCCAAGACTGATCCTGCA	69	676
11975	11994	502675	GGTTCCGAGCCTCTGCCTCG	44	468
11976	11995	502676	CGGTTCCGAGCCTCTGCCTC	74	469
11977	11996	502677	CCGTTCCGAGCCTCTGCCT	72	470
11978	11997	502678	CCCGGTTCCGAGCCTCTGCC	73	471
11979	11998	502679	TCCCGGTTCCGAGCCTCTGC	84	472

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS Nº	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
11980	11999	502680	GTCCCGGTTCCGAGCCTCTG	66	473
11982	12001	502681	AGGTCCCGGTTCCGAGCCTC	82	474
11983	12002	502682	TAGGTCCCGGTTCCGAGCCT	83	475
11984	12003	502683	CTAGGTCCCGGTTCCGAGCC	81	476
11985	12004	502684	TCTAGGTCCCGGTTCCGAGC	74	477
11986	12005	502685	CTCTAGGTCCCGGTTCCGAG	78	478
11987	12006	502686	CCTCTAGGTCCCGGTTCCGA	75	479
11988	12007	502687	GCCTCTAGGTCCCGGTTCCG	80	480
12016	12035	502688	CATCCGCTCCTGCAACTGCC	89	481
12017	12036	502689	CCATCCGCTCCTGCAACTGC	81	482
12018	12037	502690	TCCATCCGCTCCTGCAACTG	71	483
12019	12038	502691	CTCCATCCGCTCCTGCAACT	75	484
12020	12039	502692	ACTCCATCCGCTCCTGCAAC	64	485
12021	12040	502693	AACTCCATCCGCTCCTGCAA	52	486
12022	12041	502694	CAACTCCATCCGCTCCTGCA	45	487
12024	12043	502695	AGCAACTCCATCCGCTCCTG	78	488
12025	12044	502696	CAGCAACTCCATCCGCTCCT	64	489
12026	12045	502697	GCAGCAACTCCATCCGCTCC	56	490
12173	12192	503039	AGGAGGGCGGTGGCGCGGCG	0	677
12221	12240	503040	TGACAGCTGGAAGGAGAAGA	41	678
12258	12277	502712	GAAGGTGGATCCGTGGCCCC	73	505
12259	12278	502713	GGAAGGTGGATCCGTGGCCC	70	506
12260	12279	502714	GGAAGGTGGATCCGTGGCC	72	507
12261	12280	502715	TGGGAAGGTGGATCCGTGGC	50	508
12262	12281	502716	ATGGGAAGGTGGATCCGTGG	62	509
12263	12282	451417	CATGGGAAGGTGGATCCGTG	77	679
12463	12482	503041	GGAGGTTATCTAGGGAGATC	42	680
12542	12561	503042	GAAGGGACAGGTGACCCGAT	69	681
12596	12615	502724	CACCAGCGGGCACTGGCCCA	51	518
12597	12616	502725	CCACCAGCGGGCACTGGCCC	55	519
12598	12617	502726	CCCACCAGCGGGCACTGGCC	61	520
12599	12618	502727	CCCCACCAGCGGGCACTGGC	43	521
12601	12620	502728	GGCCCCACCAGCGGGCACTG	16	522
12602	12621	502729	TGGCCCCACCAGCGGGCACT	43	523
12603	12622	502730	CTGGCCCCACCAGCGGGCAC	43	524
12604	12623	502731	CCTGGCCCCACCAGCGGGCA	41	525
12605	12624	502732	GCCTGGCCCCACCAGCGGGC	30	526
12607	12626	502733	GGCCTGGCCCCACCAGCGG	66	527

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
12625	12644	502734	AGGTGGCGGCGGTGCATGGG	31	528
12626	12645	502735	CAGGTGGCGGCGGTGCATGG	23	529
12627	12646	502736	GCAGGTGGCGGCGGTGCATG	57	530
12628	12647	502737	AGCAGGTGGCGGCGGTGCAT	54	531
12629	12648	502738	CAGCAGGTGGCGGCGGTGCA	61	532
12630	12649	502739	GCAGCAGGTGGCGGCGGTGC	57	533
12631	12650	502740	AGCAGCAGGTGGCGGCGGTG	36	534
12632	12651	502741	GAGCAGCAGGTGGCGGCGGT	53	535
12633	12652	502742	GGAGCAGCAGGTGGCGGCGG	39	536
12634	12653	502743	GGGAGCAGCAGGTGGCGGCG	36	537
12635	12654	502744	AGGGAGCAGCAGGTGGCGGC	62	538
12636	12655	502745	CAGGGAGCAGCAGGTGGCGG	56	539
12637	12656	502746	GCAGGGAGCAGCAGGTGGCG	58	540
12638	12657	502747	GGCAGGGAGCAGCAGGTGGC	65	541
12639	12658	502748	TGGCAGGGAGCAGCAGGTGG	47	542
12640	12659	502749	CTGGCAGGGAGCAGCAGGTG	41	543
12642	12661	451432	CCCTGGCAGGGAGCAGCAGG	53	544
12643	12662	502750	ACCCTGGCAGGGAGCAGCAG	52	545
12646	12665	503043	CGTACCCTGGCAGGGAGCAG	59	682
12918	12937	502977	GGACTCGCCCCGCCTACGCC	71	683
12924	12943	502978	CTCCTGGGACTCGCCCCGCC	67	684
12925	12944	503044	GCTCCTGGGACTCGCCCCGC	66	685
12929	12948	503045	ATTGGCTCCTGGGACTCGCC	77	686
12930	12949	502979	GATTGGCTCCTGGGACTCGC	70	687
12936	12955	502980	GCCTCTGATTGGCTCCTGGG	56	688
12942	12961	502981	GCATGGGCCTCTGATTGGCT	20	689
12948	12967	502982	CACCCGGCATGGGCCTCTGA	20	690
12986	13005	503046	GCCAGGCCTAGGGACCTGCG	58	691
12990	13009	502760	ATAGGCCAGGCCTAGGGACC	51	555
12991	13010	502761	GATAGGCCAGGCCTAGGGAC	41	556
12992	13011	502762	CGATAGGCCAGGCCTAGGGA	69	557
12993	13012	502763	CCGATAGGCCAGGCCTAGGG	80	558
12994	13013	502764	TCCGATAGGCCAGGCCTAGG	78	559
12995	13014	502765	CTCCGATAGGCCAGGCCTAG	89	560
12996	13015	502766	CCTCCGATAGGCCAGGCCTA	79	561
12997	13016	502767	GCCTCCGATAGGCCAGGCCT	73	562
12999	13018	502768	GCGCCTCCGATAGGCCAGGC	83	563
13015	13034	502769	AACAGGAGCAGGGAAAGCGC	83	564

ES 2 756 326 T3

(continuación)

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
13016	13035	502770	GAACAGGAGCAGGGAAAGCG	70	565
13017	13036	502771	CGAACAGGAGCAGGGAAAGC	43	566
13018	13037	502772	GCGAACAGGAGCAGGGAAAG	47	567
13019	13038	502773	GGCGAACAGGAGCAGGGAAA	61	568
13020	13039	502774	CGGCGAACAGGAGCAGGGAA	74	569
13021	13040	502775	ACGGCGAACAGGAGCAGGGA	60	570
13022	13041	502776	AACGGCGAACAGGAGCAGGG	86	571
13023	13042	502777	CAACGGCGAACAGGAGCAGG	84	572
13044	13063	502778	GGGCGGCGGCACGAGACAGA	80	573
13045	13064	502779	AGGCGGCGGCACGAGACAG	76	574
13046	13065	502780	CAGGCGGCGGCACGAGACA	58	575
13047	13066	502781	CCAGGCGGCGGCACGAGAC	80	576
13048	13067	502782	CCCAGGCGGCGGCACGAGA	59	577
13049	13068	502783	GCCCAGGCGGCGGCACGAG	68	578
13050	13069	502784	AGCCAGGCGGCGGCACGA	75	579
13051	13070	502785	CAGCCCAGGCGGCGGCACG	76	580
13052	13071	502786	GCAGCCAGGCGGCGGCAC	70	581
13089	13108	502787	CTGCGGTGAGTTGGCCGGCG	68	582
13090	13109	502788	ACTGCGGTGAGTTGGCCGGC	67	583
13091	13110	502789	GACTGCGGTGAGTTGGCCGG	58	584
13092	13111	502790	AGACTGCGGTGAGTTGGCCG	71	585
13093	13112	502791	CAGACTGCGGTGAGTTGGCC	70	586
13094	13113	502792	CCAGACTGCGGTGAGTTGGC	79	587
13095	13114	502793	GCCAGACTGCGGTGAGTTGG	76	588
13096	13115	502794	CGCCAGACTGCGGTGAGTTG	66	589
13140	13159	502795	AAGACAGTTCTAGGGTTCAG	87	590
13141	13160	502796	GAAGACAGTTCTAGGGTTC	78	591
13142	13161	502797	CGAAGACAGTTCTAGGGTTC	85	592
13143	13162	502798	TCAAGACAGTTCTAGGGTT	78	593
13144	13163	502799	GTCAAGACAGTTCTAGGGT	92	594
13145	13164	502800	AGTCAAGACAGTTCTAGGG	85	595
13146	13165	502801	GAGTCAAGACAGTTCTAGG	83	596
13147	13166	502802	GGAGTCAAGACAGTTCTAG	86	597
13148	13167	502803	CGGAGTCAAGACAGTTCTA	91	598
13149	13168	502804	CCGAGTCAAGACAGTTCT	76	599
13150	13169	502805	CCCGAGTCAAGACAGTTC	90	600
13151	13170	502806	CCCCGAGTCAAGACAGTT	83	601
13152	13171	502807	GCCCCGAGTCAAGACAGT	82	602

(continuación)

	Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS N°	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
5	13153	13172	502808	GGCCCCGGAGTCGAAGACAG	73	603
	13154	13173	502809	GGCCCCGGAGTCGAAGACA	67	604
	13206	13225	502810	AGGCGGTGGGCGCGGCTTCT	73	605
10	13207	13226	502811	CAGGCGGTGGGCGCGGCTTC	57	606
	13208	13227	502812	GCAGGCGGTGGGCGCGGCTT	69	607
	13210	13229	502813	TGGCAGGCGGTGGGCGCGGC	73	608
	13212	13231	502814	ACTGGCAGGCGGTGGGCGCG	56	609
	13214	13233	502815	GAAGTGGCAGGCGGTGGGCG	71	610
15	13215	13234	502816	TGAAGTGGCAGGCGGTGGGCG	80	611
	13217	13236	502817	TGTGAAGTGGCAGGCGGTGG	85	612
	13250	13269	502818	TGGAGCTGGGCGGAGACCCA	55	613
	13252	13271	502819	ACTGGAGCTGGGCGGAGACC	53	614
20	13253	13272	502820	GACTGGAGCTGGGCGGAGAC	55	615
	13255	13274	502821	AGGACTGGAGCTGGGCGGAG	76	616
	13257	13276	502822	ACAGGACTGGAGCTGGGCGG	77	617
	13258	13277	502823	CACAGGACTGGAGCTGGGCG	74	618
	13259	13278	502824	TCACAGGACTGGAGCTGGGC	90	619
25	13449	13468	502825	GCCTCAGCCTGGCCGAAAGA	80	620
	13450	13469	502826	GGCCTCAGCCTGGCCGAAAG	72	621
	13553	13572	444401	TTGCACTTTGCAACCAACG	97	41
	14037	14056	503047	TTCTCCCCCAACCCTGATT	34	692
	14255	14274	503048	AAGTTTGCAGCAACTTTTCT	0	693
30	14325	14344	503049	GCCCCTCGGAATTCCCGGCT	0	694
	14343	14362	503050	CATCTCGGCTGCGCTCCGC	39	695
	14361	14380	503051	GCAGGCCCCACATTCCCA	0	696
	14392	14411	503052	CTTCTGCAGCCTCCGTCTC	30	697

35

Ejemplo 8: Inhibición antisentido de DMPK murina en hepatocitos primarios de ratón

40

[0299] Los oligonucleótidos antisentido dirigidos a un ácido nucleico DMPK murino se probaron por su efecto sobre el transcrito de ARN DMPK *in vitro* se transfectaron hepatocitos primarios de ratón cultivados a una densidad de 35.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 8.000 nM. Después de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de transcripción de DMPK mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Los niveles de transcripción de ARN DMPK se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de DMPK, en relación con las células de control no tratadas.

45

50

[0300] Los oligonucleótidos antisentido en las Tablas 14, 15 y 16 son 5-10-5 gapmers, donde el segmento gap comprende diez 2'-desoxinucleósidos y cada segmento ala comprende cinco nucleósidos 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos en cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P = S). Todos los residuos de citosina en cada separador son 5-metilcitosinas. El 'sitio de inicio de destino murino' indica el nucleósido más 5' al que se dirige el oligonucleótido antisentido en la secuencia del gen murino. El "sitio de detención de destino murino" indica el nucleósido más 3' al que se dirige el oligonucleótido antisentido en la secuencia del gen murino. Todos los oligonucleótidos antisentido enumerados en la Tabla 12 objetivo SEQ ID NO: 3 (GENBANK N° de acceso NT_039413,7 truncado de los nucleótidos 16666001 a 16681000). Todos los oligonucleótidos antisentido enumerados en la Tabla 13 se refieren a la SEQ ID NO: 4 (GENBANK N° de acceso NM_032418,1). Los oligonucleótidos antisentido de la Tabla 14 ID SEQ ID NO: 5 (GENBANK N° de acceso AI007148,1), SEQ ID NO: 6 (GENBANK N° de acceso AI304033,1), SEQ ID NO: 7 (GENBANK N° de acceso BC024150,1), SEQ ID NO: 8 (GENBANK N° de acceso BC056615,1), SEQ ID NO: 793 (GENBANK N° de acceso BC075715,1), SEQ ID NO: 794 (GENBANK N° de acceso BU519245,1), SEQ ID NO: 795 (GENBANK N° de acceso CB247909,1), SEQ ID NO: 796 (GENBANK N° de acceso CX208906,1), SEQ ID NO: 797 (GENBANK N° de acceso CX732022,1), SEQ ID NO: 798 (GENBANK Access No. S60315,1), o SEQ ID NO: 799 (GENBANK Access No. S60316,1). Además, el antisentido humano oligonucleótido ISIS 451421 focalización SEQ ID NO: 800 (GENBANK N° de acceso NM_001081562,1) fue también incluido en este ensayo y se enumera en la Tabla 14.

60

65

[0301] Los oligonucleótidos murinos de las Tablas 14, 15, y 16 también pueden ser reactivos cruzados con secuencias de genes humanos. Los "desajustes" indican el número de nucleobases por las cuales el oligonucleótido murino no coincide con una secuencia del gen humano. Cuanto mayor sea la complementariedad entre el oligonucleótido murino

y la secuencia humana, es más probable que el oligonucleótido murino pueda reaccionar de forma cruzada con la secuencia humana. Los oligonucleótidos murinos en las Tablas 14, 15 y 16 se compararon con la SEQ ID NO: 800 (GENBANK N° de acceso NM_001081562,1). El "sitio de inicio de diana humana" indica el nucleósido más 5' al que se dirige el gapmer en la secuencia del gen humano. El "sitio de detención de la diana humana" indica el nucleósido más 3' al que el gapmer es la secuencia del gen humano diana.

[0302] Varios de los oligonucleótidos antisentido probados demostraron una inhibición significativa de los niveles de ARNm de DMPK en las condiciones especificadas anteriormente. Algunos de los oligonucleótidos antisentido probados son reactivos cruzados con secuencias de genes humanos.

Tabla 14: Inhibición del transcrito de ARN DMPK murino en hepatocitos primarios de ratón por 5-10-5 gapmers dirigidos a la SEQ ID NO: 800

Sitio de inicio de destino murino	Sitio de parada de destino murino	ISIS N°	Secuencia	inhibición%	SEQ ID NO.	Sitio de inicio de Human Diana	Sitio de parada de objetivo humano	Desajustes
11904	11923	299516	TGGCCACAGCCACGGCCGG	47	698	1850	1869	0
11927	11946	299520	GGCCTGGCCACCAGCGGG	58	699	1873	1892	0
11962	11981	299521	CCTGGCAGGGAGCAGAGGT	44	700	1908	1927	0
3345	3364	451360	CAGCCGACTTCGGCTGACA	29	701	207	226	1
3378	3397	451361	GCCTGGTCCAGCACCAGCT	67	702	240	259	2
3388	3407	451362	GTCCCAGGAAGCCTGGTCC	62	703	250	269	2
3418	3437	451363	CGCCAGGAGAAGTCCAGC	69	213	280	299	0
3484	3503	451364	CCCACTGCAAGAAGTCGGCC	69	226	346	365	0
6264	6283	451366	CGTTAGCAGGTCCCGCCCA	73	704	660	679	2
6342	6361	451367	GTCTATGGCCATGACAATCT	61	705	738	757	0
6363	6382	451368	GTAGCCAGCCGGTGACCG	54	706	759	778	2
6851	6870	451370	GGGTGCCACAGCCACCAGC	72	707	889	908	0
6919	6938	451371	TGGCCCGTAGCTGCCTGCCC	80	708	957	976	2
7448	7467	451373	GGAATCACCCTGCCCCACCT	80	709	n/A	n/A	n/A
7458	7477	451374	GGATGTTCTGGAAATCACC	84	710	n/A	n/A	n/A
7533	7552	451375	GTGGCACCCCTCGAAGTCTGG	77	711	1271	1290	3
7589	7608	451376	CCCCGCTCACCATGGCAGTG	31	712	n/A	n/A	n/A
10278	10297	451378	GGTCCGGGACCTGATTGTCT	85	713	n/A	n/A	n/A
3229	3248	451385	GCTGCATGTCTGCCCGTCCC	74	714	90	109	1
3244	3263	451386	GGCCCCAGAACCCTAGCTGC	73	715	n/A	n/A	n/A
3270	3289	451387	TCACAGGCCCTGGCTGCCCC	62	716	131	150	1
3333	3352	451388	GGCTGACATGTTGGGCAGGC	60	717	195	214	1
3250	3269	451389	TGTCCAGGCCCCAGAACCTCT	68	718	111	130	3
12295	12314	451391	GGCCAGGCCCTAGGGATCTGC	51	719	n/A	n/A	n/A

(Continuación)

Sitio de inicio de destino murino	Sitio de parada de destino murino	ISIS no	Secuencia	inhibición%	SEQ ID NO.	Sitio de inicio de Human Diana	Sitio de parada de objetivo humano	Desajustes
12306	12325	451392	CGCCTCGGATAGCCAGGCC	52	720	1935	1954	1
12450	12469	451393	GGCTTGGAGTCTTAGGGTTC	85	721	n/A	n/A	n/A
12623	12642	451394	TCCCCGGCCCGCCAGGTGGCA	43	722	2224	2243	3
12651	12670	451395	GGTGTGGCCACGAGCCCTG	62	723	n/A	n/A	n/A
12698	12717	451396	GCCAGCTGCTGCAGCAGCG	66	724	n/A	n/A	n/A
12876	12895	451397	CCGTGTGTGCTGGCAGAGGT	76	725	n/A	n/A	n/A
13084	13103	451398	ATAAATACCGAGGAATGTCG	77	726	2766	2785	0
13094	13113	451399	GGACAGACAATAAATACCG	80	727	2776	2795	0
12362	12381	451405	GTGCAGCCAGTGTGGCGGC	69	728	1991	2010	3
11175	11194	451415	CCTGGAGAAGTTCTGGTTGG	48	729	1674	1693	3
11585	11604	451417	CATGGGAAGTGGATCCGTG	65	679	1819	1838	1
11854	11873	451419	GGTGACCCGATCGGAGCCCA	11	730	n/A	n/A	n/A
11874	11893	451420	AGCTGGAGAGAGAAAGGACA	37	731	n/A	n/A	n/A
11379	11398	451422	GTGAGGACTCGCCTGCGGC	36	732	n/A	n/A	n/A
11479	11498	451423	GCGGCTGCGGTGCCCCAGCC	50	733	n/A	n/A	n/A
11883	11902	451424	GGCCATCTAGCTGGAGAGA	45	734	n/A	n/A	n/A
3485	3504	451427	CCCCACTGCAAGAAGTCGGC	57	735	347	366	1
4621	4640	451428	TTGAGCCCTTTTAAAGGCAGC	43	736	n/A	n/A	n/A
6232	6251	451429	TGACCAGTACTGGGAGCGG	47	737	n/A	n/A	n/A
10985	11004	451430	CCTGGAGCTGGATCAGTCCC	66	738	n/A	n/A	n/A
11586	11605	451431	ACATGGGAAGTGGATCCGT	70	739	1820	1839	1
11963	11982	451432	CCCTGGCAGGGAGCAGCAGG	42	544	1909	1928	0
11973	11992	451433	GTGGACATACCCTGGCAGG	34	740	n/A	n/A	n/A
12294	12313	451434	GCCAGGCCTAGGGATCTGCA	35	741	n/A	n/A	n/A

Tabla 15: Inhibición de la transcripción de ARN de DMPK murina en hepatocitos primarios de ratón por 5-10-5 gapmers dirigidos a la SEQ ID NO: 800

Sitio de inicio de destino murino	Sitio de parada de destino murino	ISIS N°	Secuencia	inhibición%	SE Q ID NO.	Sitio de inicio de Human Diana	Sitio de parada de objetivo humano	Desajustes
330	349	451365	GGAAGCACGACACCTCGCCT	67	742	535	554	1
662	681	451369	CCTACCCATTCCATCAGGCT	81	743	n/A	n/A	n/A
881	900	451372	CGGCAGCGACAAGTGTCCC	90	744	n/A	n/A	n/A
1217	1236	451377	GTCTCTGAAGGCCATGCAGC	69	745	1407	1426	3
1329	1348	451379	CAGCCACTTGATCCGGTGGG	62	746	n/A	n/A	n/A
1342	1361	451380	AGGTGGCCTCTTCAGCCAC	74	747	n/A	n/A	n/A
1494	1513	451381	GTTGGCTGGAGAAGTTCTGG	39	748	1678	1697	2
1598	1617	451382	CCCCGTGATGGCTGCGGCTC	54	749	1782	1801	3
1644	1663	451383	GGCCATCTAGATGGGAAGGT	21	517	1828	1847	0
1741	1760	451384	AGCCCAGGCCTAGGGATCCT	39	750	1925	1944	1

Tabla 16: Inhibición de la transcripción de ARN de DMPK murina en hepatocitos primarios de ratón por separadores 5-10-5 dirigidos a SEQ ID NOs: 5-8 y 793-799

Sitio de inicio de destino murino	Sitio de parada de destino murino	Murine Diana SEQ ID NO	ISIS no	Secuencia	Inhibición%	SEQ ID NO.	Sitio de inicio de Human Diana	Sitio de parada de objetivo humano	Desajustes
324	343	5 5	451410	GGCGGGTGC CCCAGCCTGG	67	751	n/A	n/A	n/A
485	504	5 5	451411	GTCCTGGCCC CACCAGCGGG	66	752	1873	1892	1
534	553	5 5	451412	CCAGGCCTAG GAATCCTGGC	17	753	1922	1941	2
547	566	5 5	451413	GCGCCTCGGA TAGCCAGGCC	51	754	n/A	n/A	n/A
594	613	5 5	451414	CCCAGTGTTG CGCAGCAGCC	65	755	n/A	n/A	n/A
393	412	6 6	451402	GTGTTTCATCT TCACCACCG	80	756	462	481	3
1475	1494	7 7	451390	AGGTCAGCCT CTTCAGCCAC	60	757	n/A	n/A	n/A
n/A	n/A	n/A	451425	GGCCATATGG GAAGGTGGAT	48	758	1824	1843	0
1763	1782	8	451418	GGAGGATTTG GCGAGAAGCA	48	759	n/A	n/A	n/A
1032	1051	793	451403	CGAAGTCTGC CCCACCTCGA	58	760	n/A	n/A	n/A
1042	1061	793	451404	GTGGCACCCCT CGAAGTCTGC	72	761	n/A	n/A	n/A
217	236	794	451400	GGGTCCATTG TAAGGAAGCT	4 4	762	n/A	n/A	n/A
754	773	794	451401	GGTGCCACACA GCCACCAGGG	82	763	888	907	1
322	341	795	451406	TCCATGGCAG TGAGCCGGTC	55	764	1319	1338	1

(Continuación)

Sitio de inicio de destino murino	Sitio de parada de destino murino	Murine Diana SEQ ID NO	ISIS no	Secuencia	inhibición%	SEQ ID NO.	Sitio de inicio de Human Diana	Sitio de parada de objetivo humano	Desajustes
523	542	795	451407	GGGACCACTT GATCCGGTGG	63	765	n/A	n/A	n/A
534	553	795	451408	GGATCAGAGT TGGACCACT	0	766	n/A	n/A	n/A
492	511	796	451416	CCCCGTGATG GCTGCGGTTC	49	767	n/A	n/A	n/A
469	488	797	451409	GTGTGTCCTC ATACCCCGCC	60	768	n/A	n/A	n/A
629	648	798	451421	GCACCCTCGA AGTCTCGACC	72	769	n/A	n/A	n/A
854	873	799	451426	GCTCTGAAGG CCATGCAGCA	52	770	n/A	n/A	n/A

Ejemplo 9: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de DMPK murina en hepatocitos primarios de ratón

[0303] Varios de los oligonucleótidos antisentido que exhiben inhibición *in vitro* de DMPK en hepatocitos primarios de ratón (ver Ejemplo 8) se probaron a varias dosis. Las células se colocaron en placas a una densidad de 35.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 1.000 nM, 2.000 nM, 4.000 nM, 8.000 nM y 16.000 nM de cada oligonucleótido antisentido. Después de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de transcripción DMPK mediante PCR cuantitativa en tiempo real usando el conjunto de cebador de cebador RTS3181 (secuencia directa GACATATGCCAAGATTGTGCACTAC, designada aquí como SEQ ID NO: 771; secuencia inversa CACGAATGAGGTCCTGAGCTT, designada aquí como SEQ ID NO: 772; secuencia de cebador AACACTTGTCGCTGCCGCTGGCX, designada aquí como SEQ ID NO: 773). Los niveles de transcripción de DMPK se normalizaron al contenido de ARN total, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan en la Tabla 17 como porcentaje de inhibición de DMPK, en relación con las células de control no tratadas.

[0304] La mayoría de los oligonucleótidos antisentido probados demostraron una inhibición dependiente de la dosis de los niveles de ARNm de DMPK en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 17: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de DMPK murina en hepatocitos primarios de ratón

ISIS no	1.000 nM	2.000 nM	4.000 nM	8.000 nM	16.000 nM	CI ₅₀ (µM)
451369	33	59	78	87	94	1,57
451371	60	77	84	90	91	0,24
451373	53	62	82	89	92	0,74
451374	33	42	76	88	94	2,00
451375	43	62	81	89	88	1,05
451378	39	79	80	87	94	0,87
451385	22	57	80	78	93	2,01
451393	49	63	86	80	80	0,59
451397	63	75	74	81	92	0,22
451398	29	72	84	83	90	1,29
451399	27	53	81	68	80	2,07
451401	34	71	87	86	92	1,12
451402	34	69	75	86	74	1,14

Ejemplo 10: Inhibición antisentido de la actina esquelética alfa 1 humana en células HepG2

[0305] Los oligonucleótidos antisentido dirigidos a un ácido nucleico de la actina esquelética alfa humana, un gen que puede llevar una repetición CTG expandida capaz de causar síntomas de DM1 cuando se inserta en modelos de ratón, fueron probados por su efecto sobre la transcripción de ARN alfa-actina *in vitro*. Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 10.000 nM. Después de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de transcripción de ARN de actina alfa 1 mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Los niveles de transcripción de ARN de actina alfa 1 se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de la actina alfa1, en relación con las células de control no tratadas.

[0306] Los oligonucleótidos antisentido de la Tabla 18 son gapmers 5-10-5, en donde el segmento de hueco comprende diez 2'-desoxinucleósidos y cada segmento de ala comprende cinco nucleósidos de 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos en cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P = S). Todos los residuos de citosina en cada separador son 5-metilcitosinas. El 'sitio de inicio de destino' indica el nucleósido más 5' al que se dirige el oligonucleótido antisentido. El 'sitio de detención objetivo' indica el nucleósido más 3' al que se dirige el oligonucleótido antisentido. Todos los oligonucleótidos antisentido enumerados en la Tabla 18 SEQ ID NO: 801 (GENBANK N° de acceso NM_001100,3).

[0307] Las secuencias de oligonucleótidos antisentido probadas demostraron una inhibición dependiente de la dosis de los niveles de ARNm de actina alfa 1 en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 18: Inhibición del transcrito de ARN de actina alfa 1 humano en células HepG2 por 5-10-5 gapmers dirigidos a SEQ ID NO: 801

Sitio de inicio de destino	Sitio de parada de destino	ISIS no	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO.
16	35	445205	AGCGAGGCTTCACTTGGCGC	74	774
20	39	190403	GGGAAGCGAGGCTTCACTTG	75	775
1028	1047	190401	GCGGTCAGCGATCCAGGGT	78	776
1058	1077	445225	GGGTGCCAGCGCGGTGATCT	73	777
1320	1339	445231	TGTTACAAAGAAAGTGACTG	74	778
1339	1358	445232	CGATGGCAGCAACGGAAGTT	96	779
1348	1367	445233	GTCAGTTTACGATGGCAGCA	100	780
1417	1436	445235	CAGGGCTTTGTTTCGAAAAA	91	781
1430	1449	445236	CCATTTTCTTCCACAGGGCT	99	782
1447	1466	445237	ATGCTTCTTCAAGTTTTCCA	97	783
1460	1479	445238	CAGAATGACTTTAATGCTTC	95	784

Ejemplo 11: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de actina alfa 1 humana en células HepG2

[0308] Varios de los oligonucleótidos antisentido que exhiben inhibición *in vitro* de actina alfa 1 en células HepG2 (ver Ejemplo 8) se probaron a varias dosis. Las células se sembraron a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 625 nM, 1.250 nM, 2.500 nM, 5.000 nM, 10.000 nM y 20.000 nM de cada oligonucleótido antisentido. Después de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de transcripción de ARN de actina alfa 1 mediante PCR cuantitativa en tiempo real usando el conjunto de Cebador de cebador RTS3154 (secuencia directa CCACCGCAAATGCTTCTAGAC, designada aquí como SEQ ID NO: 785; secuencia inversa CCCCCCATTTGAGAAGATTC, designada aquí como SEQ ID NO: 786; secuencia de Cebador CTCCACCTCCAGCAGCGACTTCTX, designada aquí como SEQ ID NO: 787). Los niveles de transcripción de ARN de actina alfa 1 se normalizaron al contenido de ARN total, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan en la Tabla 19 como porcentaje de inhibición de alfa 1 actina, en relación con las células de control no tratadas.

[0309] Varios de los oligonucleótidos antisentido demostraron una inhibición dependiente de la dosis de los niveles de ARNm de actina alfa 1 en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 19: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de la alfa 1 actina humana en células HepG2

ISIS N°	625 nM	1.250 nM	2.500 nM	5.000 nM	10.000 nM	20.000 nM	CI ₅₀ (µM)
445233	21	72	63	82	96	83	1,1
445236	26	68	82	91	90	91	0,8
445237	36	59	76	84	83	90	0,8
445232	14	42	54	59	80	91	2,6
445238	27	43	54	73	76	90	2,0
445235	26	52	29	58	59	24	0,7
190403	25	29	36	25	61	54	11,9
190401	17	14	40	68	76	72	3,9
445225	25	23	49	28	52	50	15,8
445205	26	31	34	28	55	36	7,6
445231	30	25	39	26	42	36	>20,0

Ejemplo 12: Inhibición antisentido *in vivo* de la actina alfa 1 humana por administración intramuscular en ratones transgénicos

[0310] Para probar el efecto de la inhibición antisentido para el tratamiento de la distrofia miotónica, se requirió un modelo de ratón apropiada. El modelo de ratón HSA LR es un modelo establecido para DM1 (Mankodi, A. et al. Science. 289: 1769, 2000). Los ratones portan un transgen de actina esquelética humana (hACTA1) con 220 repeticiones CTG insertadas en el 3' UTR del gen. La transcripción hACTA1-UGexp se acumula en los focos nucleares en los músculos esqueléticos y produce una mionía similar a la del DM1 humano (Mankodi, A. y col. Mol. Cell 10: 35, 2002; Lin, X. y col. Hum. Mol. Genet, 15: 2087, 2006). Por lo tanto, se esperaba que la mejora de los síntomas de DM1 en el ratón HSA LR mediante la inhibición antisentido del transgén hACTA1 predeciría la mejora de síntomas similares en pacientes humanos mediante la inhibición antisentido del transcrito DMPK.

[0311] Se generaron ratones DM1 HSA (actina esquelética humana) LR (repetición larga) mediante inserción en ratones FVB/N de un transgén con 250 repeticiones CUG en la UTR 3' de actina esquelética humana. El transgen se expresa en los ratones como un ARN de repetición CUG, que se retiene en el núcleo, formando inclusiones nucleares o focos, similar al observado en muestras de tejido humano de pacientes con distrofia miotónica (DM1).

[0312] ISIS 190403 e ISIS 445238, que demostraron una inhibición dependiente de la dosis estadísticamente significativa *in vitro* (véase el Ejemplo 11), se evaluaron para determinar su capacidad para reducir el transcrito de ARN de actina alfa 1 humana *in vivo*.

Tratamiento

[0313] Los ratones HSA^{LR} se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron *ad libitum* con pienso de ratón Purina normal. Los animales se aclimataron durante al menos 7 días en las instalaciones de investigación antes del inicio del experimento. Los oligonucleótidos antisentido (ASO) se prepararon en PBS y se esterilizaron por filtración a través de un filtro de 0,2 micras. Los oligonucleótidos se disolvieron en PBS al 0,9% para inyección.

[0314] Los ratones se dividieron en dos grupos de tratamiento. Los dos grupos recibieron inyecciones intramusculares directas de ISIS 190403 o ISIS 445238 a una dosis de 0,8 nM en el músculo tibial anterior en un lado. El músculo tibial anterior contralateral en cada ratón recibió una dosis única de inyección intramuscular de PBS. El músculo inyectado con PBS actuó como control.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

[0315] Veinticuatro horas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se aisló el tejido de los músculos tibiales anteriores de ambos lados. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de la actina alfa 1 y se normalizó a ARN de 18 s. Como se presenta en la Tabla 20, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo la expresión de transcripción de ARN de alfa-actina humana. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del transcrito de actina alfa1, en relación con el control PBS.

[0316] Los resultados indican que el tratamiento con ISIS 190403 e ISIS 445238 resultó en la inhibición de los niveles de ARN de actina alfa 1 en los ratones.

Tabla 20: Porcentaje de inhibición de la transcripción de ARN de actina alfa 1 humana en ratones HSA LR

ISIS N°	% de inhibición
190403	38
445238	40

Ejemplo 13: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de la actina alfa 1 humana por administración intramuscular en ratones transgénicos

[0317] ISIS 445236, que demostró una inhibición dependiente de la dosis estadísticamente significativa *in vitro* (ver Ejemplo 11), se evaluó su capacidad para reducir el ARN de la actina alfa 1 humana transcripción *in vivo*.

Tratamiento

[0318] Los ratones HSA^{LR} se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron *ad libitum* con pienso de ratón Purina normal. Los animales se aclimataron durante al menos 7 días en las instalaciones de investigación antes del inicio del experimento. Los oligonucleótidos antisentido (ASO) se prepararon en PBS y se esterilizaron por filtración a través de un filtro de 0,2 micras. Los oligonucleótidos se disolvieron en PBS al 0,9% para inyección.

[0319] Los ratones se dividieron en tres grupos de tratamiento. Los grupos recibieron inyecciones intramusculares directas de ISIS 445236 a dosis de 0,2 nM, 0,4 nM o 0,8 nM en el músculo tibial anterior de un lado. El tibial anterior contralateral en cada ratón recibió una dosis única de inyección intramuscular de PBS. El músculo inyectado con PBS actuó como control.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

[0320] Veinticuatro horas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se aisló tejido de los músculos tibiales anteriores de ambos lados. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de la actina alfa 1 y se normalizó a ARN de 18 s. Como se presenta en la Tabla 21, el tratamiento con ISIS 445236 redujo la expresión del

transcripto de ARN de actina alfa humana en todas las dosis. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición de la transcripción de alfa 1 actina, en relación con el control.

5 **[0321]** Los resultados indican que el tratamiento con ISIS 445236 dio como resultado una inhibición significativa de la alfa 1 de ARNm de actina niveles en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 21: Inhibición de la transcripción de ARN de actina alfa 1 humana por ISIS 445236 en ratones HSA LR

10

Dosis (nM)	% de inhibición
0,2	70
0,4	54
0,8	78

15 *Evaluación de la miotonía por electromiografía*

[0322] La miotonía se refiere al potencial de acción repetitiva que se debe a la relajación retardada de las fibras musculares. Este fenómeno se observa en pacientes con distrofia miotónica, así como en los ratones HSA^{LR}. Cuando la aguja EMG se inserta en un músculo miotónico, la actividad eléctrica se prolonga hasta varios segundos después de que la actividad de inserción normalmente debería cesar. La frecuencia de las descargas miotónicas varía de 50 a 100 impulsos por segundo.

20 **[0323]** La miotonía se midió mediante electromiografía y se calificó de la siguiente manera: el grado 0 se refiere a que no se produce miotonía por ninguna inserción de aguja (0%); grado 1 se refiere a la miotonía provocada por menos del 50% de inserciones de agujas; el grado 2 se refiere a miotonía provocada por más del 50% de inserciones de agujas; y el grado 3 se refiere a la mtonía provocada por inserciones de agujas al 100%.

25 **[0324]** Antes de la electromiografía, los ratones se anestesiaron usando i.p. un cóctel de 100 mg/kg de ketamina, 10 mg/kg de xilacina y 3 mg/kg de acepromacina. La electromiografía en los cuádriceps izquierdo y derecho, los músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, los músculos tibiales anteriores izquierdo y derecho y los músculos paraespinales lumbares se realizó como se describió anteriormente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) usando electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de agujas para cada músculo. Los datos se presentan en la Tabla 22 como el grado promedio de miotonía observado en cuatro ratones de cada grupo y demuestra una reducción significativa de la miotonía en ratones tratados con ISIS 445236.

30 **Tabla 22:** Reducción promedio de la miotonía en varios músculos de ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido

35

Tratamiento	Dosis (nM)	Grado de miotonía
PBS		2,7
ISIS 455236	0,2	1,3
	0,4	1,0
	0,8	1,0

40 *Corrección del empalme alternativo*

[0325] En el modelo de ratón DM1/HSA^{LR}, la acumulación del ARN CUG expandido en el núcleo conduce al secuestro de proteínas de unión a poli(CUG), tales como músculo ciego tipo 1 (MBLN1) (Miller, JW et al. EMBO J. 19: 4439, 2000). El factor de empalme MBLN1, que controla el empalme alternativo del gen *Sercal*, está secuestrado en focos CUG expandidos. Esto desencadena la desregulación de la unión alternativa de este gen. Para evaluar el efecto de la inhibición antisentido de la actina alfa 1 humana en dicho empalme alternativo, se purificó el ARN total del músculo tibial anterior, gastrocnemio y cuádriceps utilizando el Mini Kit de tejido lipídico RNeasy (Qiagen), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La RT-PCR se realizó con el sistema SuperScript III One-Step RT-PCR y Platinum Taq Polymerase (Invitrogen), utilizando cebadores específicos de genes para la síntesis de ADNc y la amplificación por PCR. Los cebadores directos e inversos para *Serca-1* se han descrito en Bennett y Swayze (Annu. Rev. Pharmacol. 2010; 50: 259-93). Los productos de PCR se separaron en geles de agarosa, se tiñeron con tinción con gel de ácido nucleico SybrGreen I (Invitrogen), y se tomaron imágenes usando una caja oscura inteligente Fujifilm LAS-3000.

55 **[0326]** Los productos de PCR de empalme *Serca1* en el control de PBS demostraron la exclusión del exón 22 como resultado de la desregulación de MBLN1. El tratamiento con ISIS 445236 dio como resultado en el exón 22 inclusión y normalización de corte y empalme alternativo de la *Serca1* gen en el tibial anterior, gastrocnemio y músculos cuádriceps.

60 **[0327]** Por lo tanto, la inhibición antisentido de la actina alfa 1 corrigió la desregulación de empalme de *Serca1*, lo que indica que el tratamiento con oligonucleótido antisentido redujo la acumulación de CUGexp en los focos nucleares. La

acumulación reducida de CUGexp en los focos nucleares corrige el secuestro de MBLN1 permitiendo así que ocurra el empalme normal.

Ejemplo 14: Inhibición antisentido *in vivo* de la actina alfa 1 humana por administración subcutánea en ratones transgénicos

[0328] Se evaluaron ISIS 190403, ISIS 445236 e ISIS 445238 por su capacidad para reducir el transcrito de ARN de actina alfa humana *in vivo*.

Tratamiento

[0329] Los ratones HSA^{LR} se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron *ad libitum* con pienso de ratón Purina normal. Los animales se aclimataron durante al menos 7 días en las instalaciones de investigación antes del inicio del experimento. Los oligonucleótidos antisentido (ASO) se prepararon en PBS y se esterilizaron por filtración a través de un filtro de 0,2 micras. Los oligonucleótidos se disolvieron en PBS al 0,9% para inyección.

[0330] Los ratones se dividieron en cuatro grupos de tratamiento. Los primeros tres grupos recibieron inyecciones subcutáneas de ISIS 190403, ISIS 445236 o ISIS 445238 a una dosis de 25 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El cuarto grupo recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 4 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

[0331] Veinticuatro horas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se extrajo tejido de los músculos cuádriceps (izquierdo y derecho), músculos gastrocnemios (izquierdo y derecho) y músculos tibiales anteriores (izquierdo y derecho), aislado. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de la actina alfa 1 y se normalizó a ARN de 18 s. Como se presenta en la Tabla 23, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo la expresión del transcrito de ARN de alfa-actina humana. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición de la transcripción de alfa 1 actina, en relación con el control.

[0332] Tanto ISIS 445236 como ISIS 445238 demostraron una inhibición significativa de los niveles de ARNm de alfa actina en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 23: Porcentaje de inhibición del transcrito de ARN de actina alfa 1 humano en ratones HSA^{LR}

Tipo de músculo	ISIS 190403	ISIS 445236	ISIS 445238
Cuádriceps	16	83	72
Gastrocnemio	0 0	85	73
Tibial anterior	2	81	71

Hibridación fluorescente in situ de actina alfa 1 en músculos

[0333] Se fijaron secciones de tejido muscular congelado en paraformaldehído fresco al 3% en solución de PBS durante 15-20 minutos, después de lo cual se enjuagaron dos veces con PBS durante 5 minutos. Los núcleos se permeabilizaron con Triton X-100 al 0,5% durante 5 minutos, después de lo cual el tejido se bloqueó con suero de CaBra normal durante 30 minutos. Las secciones se incubaron con un ARN de 2'-O-metilo dirigido a la alfa-actina que está marcada con 5' con Texas Red (Tecnologías Integradas de ADN). Las secciones se tiñeron con DAPI para marcar los núcleos. Las secciones fueron montadas y vistas con un microscopio de fluorescencia estándar. La adquisición de imágenes se realizó mediante el software Metavue y la desconvolución se logró mediante el software Autoquant.

[0334] Todas las secciones de tejido muscular de ratones tratados con ISIS 445236 e ISIS 445238 mostraron una intensidad fluorescente reducida de la señal de actina alfa 1 en los focos ribonucleares, lo que indica la inhibición antisentido del ARNm de actina alfa humana y la reducción del ARN en los focos nucleares.

Evaluación de la miotonía por electromiografía

[0335] La miotonía se refiere al potencial de acción repetitiva debido a la relajación retardada de las fibras musculares. Este fenómeno se observa en pacientes con distrofia miotónica, así como en los ratones HSA^{LR}. Cuando la aguja EMG se inserta en un músculo miotónico, la actividad eléctrica se prolonga hasta varios segundos después de que la actividad de inserción normalmente debería cesar. La frecuencia de las descargas miotónicas varía de 50 a 100 impulsos por segundo.

[0336] La miotonía se puede medir mediante electromiografía y se clasifica de la siguiente manera: el grado 0 se refiere a que no se produce miotonía por ninguna inserción de aguja (0%); grado 1 se refiere a la miotonía provocada

por menos del 50% de inserciones de agujas; el graC₂ se refiere a la miotonía provocada por más del 50% de inserciones de agujas; y el grado 3 se refiere a la mtonia provocada por inserciones de agujas al 100%.

[0337] Antes de la electromiografía, los ratones se anestesiaron utilizando i.p. 100 mg/kg de ketamina, 10 mg/kg de xilacina y 3 mg/kg de acepromacina o 250 mg/kg de 2,2,2-tribromoetanol. La electromiografía en los cuádriceps izquierdo y derecho, los músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, los músculos tibiales anteriores izquierdo y derecho y los músculos paraespinales lumbares se realizó como se describió anteriormente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) usando electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de agujas para cada músculo. Los datos se presentan en la Tabla 24 como el grado promedio de miotonía observado en cuatro ratones de cada grupo y demuestra una reducción significativa de la miotonía en ratones tratados con ISIS 445236 e ISIS 445238.

Tabla 24: Reducción promedio de la miotonía en varios músculos de ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido

	PBS	ISIS 190403	ISIS 445236	ISIS 445238
Cuádriceps izquierdo	3,00	3,00	0,00	0,25
Cuádriceps derecho	3,00	3,00	0,00	0,00
Gastrocnemio izquierdo	3,00	3,00	0,00	0,25
Gastrocnemio derecho	3,00	3,00	0,00	0,25
Tibial izquierdo anterior	2,75	2,50	0,00	0,00
Tibial derecho anterior	2,75	2,50	0,00	0,00
Paraspinales lumbares	3,00	3,00	0,00	0,75

Corrección del empalme alternativo

[0338] El factor de empalme MBNL1, que controla *Sercaf* El empalme, el empalme de *m-titina*, el empalme del gen del canal de cloruro CIC-1 (*Clcn1*) y el empalme de *Zasp*, se secuestra en focos CUG expandidos. El secuestro de MBNL1 desencadena el empalme desregulado en cada uno de estos genes. Para evaluar el efecto de la inhibición antisentido de la actina alfa 1 humana en el empalme, se purificó el ARN total del músculo tibial anterior, gastrocnemio y cuádriceps y se realizó RT-PCR, como se describe en el Ejemplo 13. Los cebadores directo e inverso para *Serca-1*, *m-Titin*, *Clcn1* y *ZASP* se han descrito en Bennett y Swayze, Annu. Rev. Pharmacol. 2010; 50: 259-93.

[0339] En ratones HSA^{LR} tratados con PBS, el empalme *sercaf* está desregulado como se demuestra por exclusión del exón 22. El tratamiento con cada uno de ISIS 445236 e ISIS 445238 resultó en la inclusión del exón 22 y la normalización del empalme alternativo del gen *Serca1* en los músculos tibial anterior, gastrocnemio y cuádriceps.

[0340] En ratones HSA^{LR} tratados con PBS, el empalme de *m-Titina* está desregulado como se demuestra mediante la inclusión del exón 5. El tratamiento con cada uno de ISIS 445236 e ISIS 445238 dio como resultado la omisión del exón 5 y la normalización del empalme alternativo del gen *m-Titin* en los músculos tibial anterior, gastrocnemio y cuádriceps.

[0341] En ratones HSA^{LR} tratados con PBS, el empalme de *Clcn1* está desregulado como se demuestra por la inclusión del exón 7a. El tratamiento con cada uno de ISIS 445236 e ISIS 445238 dio lugar a la omisión del exón 7a y la normalización de corte y empalme alternativo de la *CLCN1* gen en el tibial anterior, gastrocnemio, y los músculos cuádriceps.

[0342] En ratones HSA^{LR} tratados con PBS, el empalme de *Zasp* está desregulado como se demuestra mediante la inclusión del exón 11. El tratamiento con cada uno de ISIS 445236 e ISIS 445238 dio lugar a la omisión del exón 11 y la normalización de corte y empalme alternativo de la *ZASP* gen en el tibial anterior, gastrocnemio, y los músculos cuádriceps.

[0343] Por lo tanto, la inhibición antisentido de la alfa-actina corrigió la desregulación de empalme *Serca1*, *m-Titin*, *Clcn1* y *Zasp*, lo que indica que el tratamiento con oligonucleótido antisentido redujo la acumulación de CUGexp en los focos nucleares. La reducción de la acumulación de CUGexp en los focos nucleares corrige el secuestro de MBLN1 permitiendo así que se produzca un empalme normal.

Ejemplo 15: Inhibición antisentido *in vivo* de la actina alfa 1 humana en ratones transgénicos

[0344] Inhibición antisentido del transcrito de ARN de actina alfa humana por ISIS 445236 e ISIS 445238 en miotonía en ratones HSA^{LR} se evaluó adicionalmente.

Tratamiento

[0345] Los ratones HSA^{LR} se dividieron en tres grupos de tratamiento. Los primeros dos grupos recibieron inyecciones subcutáneas de ISIS 445236 o ISIS 445238 a una dosis de 25 mg/kg dos veces por semana durante 2 semanas. El tercer grupo recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 2 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

[0346] Veinticuatro horas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se aisló tejido de los músculos cuádriceps, músculos gastrocnemios y músculos tibiales anteriores. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de la actina alfa 1 y se normalizó a ARN de 18s. Como se presenta en la Tabla 25, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo la expresión de transcripción de ARN de alfa-actina humana. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del transcrito de actina alfa1, en relación con el control PBS.

[0347] Tanto ISIS 445236 como ISIS 445238 demostraron una inhibición significativa de los niveles de ARNm de alfa 1 actina en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 25: Porcentaje de inhibición del transcrito de ARN de actina alfa 1 humano en ratones HSA^{LR}

Tipo de músculo	ISIS 445236	ISIS 445238
Cuádriceps	61	64
Gastrocnemio	68	37
Tibial anterior	68	41

Evaluación de la miotonía por electromiografía

[0348] La electromiografía en los cuádriceps izquierdo y derecho, los músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, los músculos tibial anterior izquierdo y derecho y los músculos paraespinales lumbares se realizó como se describió anteriormente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) mediante el uso de electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de aguja para cada músculo. Los datos se presentan en la Tabla 26 como el grado promedio de miotonía observado en cuatro ratones de cada grupo y demuestra una reducción significativa de la miotonía en ratones tratados con ISIS 445236 e ISIS 445238.

Tabla 26: Reducción promedio de la miotonía en varios músculos de ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido

	PBS	ISIS 445236	ISIS 445238
Cuádriceps izquierdo	3,00	0,00	1,75
Cuádriceps derecho	3,00	0,00	1,75
Gastrocnemio izquierdo	3,00	0,25	1,5
Gastrocnemio derecho	3,00	0,25	1,00
Tibial izquierdo anterior	2,75	0,00	0,00
Tibial derecho anterior	2,75	0,00	0,00
Paraspinales lumbares	3,00	0,50	2,00

Corrección del empalme alternativo

[0349] Para evaluar el efecto de ISIS 190401 en El empalme alternativo de *Sercal*, el ARN total purificado del músculo gastrocnemio anterior tibial y el músculo cuádriceps se analizaron en un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 13.

[0350] En ratones HSA^{LR} tratados con PBS, el empalme *sercal* está desregulado como se demuestra por la exclusión del exón 22, como resultado de la desregulación de MBLN1. El tratamiento con cada uno de ISIS 445236 e ISIS 445238 resultó en la inclusión casi completa y la normalización del empalme alternativo del exón 22 del gen *Sercal* en los músculos tibial anterior y cuádriceps.

[0351] Por lo tanto, la inhibición antisentido de la actina alfa 1 corrigió la desregulación de empalme *sercal*, lo que indica que el tratamiento con oligonucleótido antisentido redujo la acumulación de CUGexp en los focos nucleares. La reducción de la acumulación de CUGexp en los focos nucleares corrige el secuestro de MBLN1 permitiendo así que se produzca un empalme normal.

Ejemplo 16: Inhibición antisentido dependiente de la dosis de actina alfa 1 humana en ratones transgénicos

[0353] Se evaluó la inhibición dependiente de la dosis del transcrito de ARN de actina alfa 1 humana por ISIS 445236 e ISIS 445238 sobre miotonía en ratones HSA^{LR}.

5 *Tratamiento*

[0353] Los ratones HSA^{LR} fueron inyectados subcutáneamente con ISIS 445236 o ISIS 445238 a dosis de 2,5 mg/kg, 8,5 mg/kg o 25,0 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El grupo control recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 4 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

15 **[0354]** Veinticuatro horas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se aisló tejido de los músculos cuádriceps (Quad), músculos gastrocnemios (Gastroc) y músculos tibiales anteriores (TA). El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de alfa 1 actina y se normalizó a ARN de 18 s. Como se presenta en la Tabla 27, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo la expresión de transcripción de ARN de alfa-actina humana. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del transcrito de actina alfa 1, en relación con el control PBS.

20 **[0355]** Ambos oligonucleótidos antisentido demostraron una inhibición dependiente de la dosis de los niveles de ARNm de alfa-actina en los músculos cuádriceps, músculos gastrocnemios y músculos tibiales anteriores en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 27: Inhibición dependiente de la dosis del ARN de actina alfa 1 humano transcripción en ratones HSA^{LR}

25

	mg/kg/semana	Quad	Gastroc	Ta
ISIS 445236	5	24	36	46
	17	53	57	59
	50	86	86	90
ISIS 445238	5	21	37	3
	17	30	39	60
	50	59	81	70

30

35

Evaluación de la miotonía por electromiografía

40 **[0356]** La electromiografía en los cuádriceps izquierdo y derecho (Quad), los músculos gastrocnemio izquierdo y derecho (Gastroc), los músculos tibial anterior (TA) izquierdo y derecho y los músculos paraespinales lumbares se realizaron como se describió anteriormente (Kanadia et al. 2003, Science, 302: 1978-1980) mediante el uso de electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de aguja para cada músculo. Los datos se presentan en la Tabla 28 como el grado promedio de miotonía observado en cuatro ratones de cada grupo y demuestra una reducción significativa de la miotonía dependiente de la dosis en ratones tratados con ISIS 445236 e ISIS 445238.

45

Tabla 28: Reducción promedio de la miotonía en varios músculos de ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido

50

	mg/kg/semana	Quad Izquierdo	Quad Derecho	Gastroc Izquierdo	Gastroc Derecho	TA Izquierdo	TA Derecho	Paraespinales lumbares
PBS	-	3,00	3,00	3,00	3,00	2,75	2,75	3,00
ISIS 445236	5	3,00	3,00	3,00	3,00	2,25	2,25	3,00
	17	0,75	0,75	0,75	1,00	0,00	0,00	1,75
	50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ISIS 445238	5	2,75	2,75	2,50	2,50	2,00	1,75	2,75
	17	3,00	3,00	2,00	2,25	0,00	0,00	2,75
	50	0,75	0,75	0,25	0,25	0,00	0,00	1,00

55

60

Corrección del empalme alternativo

[0357] Para evaluar el efecto de ISIS 190401 en el empalme alternativo de *Serca1*, ARN total purificado del tibnecro anterior gastrocnemio y músculo cuádriceps analizado en un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 13.

65

[0358] En ratones HSA^{LR} tratados con PBS, el empalme *serca1* está desregulado como lo demuestra la exclusión del

exón 22, como resultado de la desregulación de MBLN1. El tratamiento con ISIS 445236 o ISIS 445238 a dosis de 8,5 mg/kg o 25,0 mg/kg dos veces por semana (o 17,0 mg/kg/semana y 50,0 mg/kg/semana) dio como resultado la inclusión completa y la normalización del empalme alternativo de exón 22 del gen *Serca1* en los tres tipos musculares.

5 **[0359]** Por lo tanto, la inhibición antisentido de la actina alfa 1 corrigió la desregulación de empalme de *Serca1*, lo que indica que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo la acumulación de CUGexp en los focos nucleares. La reducción de la acumulación de CUGexp en los focos nucleares corrige el secuestro de MBLN1 permitiendo así que se produzca un empalme normal.

10 **Ejemplo 17: Inhibición antisentido *in vivo* por un oligonucleótido dirigido a la región codificante de HSA de la actina alfa 1 humana en ratones transgénicos**

15 **[0360]** Inhibición antisentido del transcrito de ARN de la actina alfa humana por ISIS 190401 (5'-GCGGTCAGCGATCCCAGGGT-3' (SEQ ID NO: 788), se evaluó el sitio de inicio objetivo 1028 de SEQ ID NO: 1) sobre miotonía en ratones HSA^{LR}.

Tratamiento

20 **[0361]** Los ratones HSA^{LR} recibieron inyecciones subcutáneas de ISIS 190401 a una dosis de 25 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. Un grupo de control recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 2 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

25 **[0362]** Veinticuatro horas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se aisló tejido de los músculos cuádriceps, músculos gastrocnemios y músculos tibiales anteriores. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de la actina alfa 1 y se normalizó a ARN de 18s. Como se presenta en la Tabla 29, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo la expresión del transcrito de ARN de alfa-actina humana. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del transcrito de actina alfa1, en relación con el control PBS.

30 **[0363]** El tratamiento con ISIS 190401 dio como resultado una inhibición significativa de los niveles de ARNm de alfa-actina en el músculo cuádriceps, el músculo gastrocnemio y el músculo tibial anterior en las condiciones especificadas anteriormente.

35 **Tabla 29:** Inhibición antisentido del transcrito de ARN de actina alfa 1 humano en ratones HSA^{LR}

Tipo de músculo	% de inhibición
Cuádriceps	85
Gastrocnemio	86
Tibial anterior	89

45 *Evaluación de miotonía por electromiografía*

50 **[0364]** Se realizó electromiografía en cuádriceps izquierdo y derecho, músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, tibial izquierdo y derecho, músculos anteriores tibiales y músculos paraespinales lumbares. Como se describió anteriormente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) mediante el uso de electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de aguja para cada músculo. Los datos se presentan en la Tabla 30 como el grado promedio de miotonía observado en cuatro ratones de cada grupo y demuestra una reducción significativa de la miotonía en ratones tratados con ISIS 190401.

55 **Tabla 30:** Reducción promedio de la miotonía en varios músculos de ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido

	PBS	ISIS 190401
Cuádriceps izquierdo	3,00	0,00
Cuádriceps derecho	3,00	0,00
Gastrocnemio izquierdo	3,00	0,00
Gastrocnemio derecho	3,00	0,00
Tibial izquierdo anterior	2,50	0,00
Tibial derecho anterior	2,50	0,00
Paraspinales lumbares	3,00	0,50

Corrección del empalme alternativo

[0365] Para evaluar el efecto del ISIS 190401 en el empalme alternativo de *Serca1*, se analizó el ARN total purificado del tibial anterior gastrocnemio y el músculo cuádriceps en un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 13.

[0366] En ratones HSA^{LR} tratados con PBS, el empalme *serca1* está desregulado como lo demuestra la exclusión del exón 22, como un resultado de la desregulación de MBLN1. El tratamiento con ISIS 190401 resultó en la inclusión completa y la normalización del empalme alternativo del exón 22 del gen *Serca1* en los tres tipos de músculos.

[0367] Por lo tanto, la inhibición antisentido de la actina alfa 1 corrigió la desregulación de empalme de *Serca1*, lo que indica que el tratamiento con oligonucleótido antisentido redujo la acumulación de CUGexp en los focos nucleares. La acumulación reducida de CUGexp en los focos nucleares corrige el secuestro de MBLN1 permitiendo así que ocurra el empalme normal.

Ejemplo 18: Duración de la acción de la inhibición antisentido por un oligonucleótido dirigido a la actina alfa 1 humana en ratones transgénicos

[0368] Se evaluó la duración de la acción de la inhibición antisentido del transcrito de ARN de actina alfa humana por ISIS 445236 en ratones HSA^{LR}.

Tratamiento

[0369] Los ratones HSA^{LR} recibieron inyecciones subcutáneas de ISIS 445236 a una dosis de 25 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. Un grupo de control recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 2 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos. Los ratones fueron analizados 6 semanas después de la administración de la última dosis.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

[0370] Seis semanas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se aisló tejido de los músculos cuádriceps, músculos gastrocnemios y músculos tibiales anteriores. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de la actina alfa 1 y se normalizó a ARN de 18 s. Como se presenta en la Tabla 31, el tratamiento con ISIS 445236 redujo la expresión del transcrito de ARN de actina alfa humana, y este efecto se mantuvo al menos durante 6 semanas. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del transcrito de actina alfa1, en relación con el control PBS.

[0371] El tratamiento con ISIS 445236 dio como resultado una inhibición significativa de los niveles de ARNm de alfa-actina en el músculo cuádriceps, el músculo gastrocnemio y el músculo tibial anterior en las condiciones especificadas anteriormente.

Tabla 31: Inhibición antisentido del transcrito de ARN de actina alfa 1 humano en ratones HSA^{LR}

Tipo de músculo	% de inhibición
Cuádriceps	88
Gastrocnemio	76
Tibial anterior	67

Evaluación de miotonía por electromiografía

[0372] Se realizó electromiografía en cuádriceps izquierdo y derecho, músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, tibial izquierdo y derecho, músculos anteriores tibiales y músculos paraespinales lumbares. Como se describió anteriormente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) mediante el uso de electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de aguja para cada músculo. Los datos se presentan en la Tabla 32 como el grado promedio de miotonía observado en cuatro ratones de cada grupo y demuestra una reducción significativa de la miotonía en ratones tratados con ISIS 445236. Por lo tanto, el efecto de la inhibición antisentido de alfa actina por ISIS 445236 se mantuvo al menos durante 6 semanas.

Tabla 32: Reducción promedio de la miotonía en varios músculos de ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido

	PBS	ISIS 445236
Cuádriceps izquierdo	3,00	0,00
Cuádriceps derecho	3,00	0,00
Gastrocnemio izquierdo	3,00	0,00
Gastrocnemio derecho	3,00	0,00
Tibial izquierdo anterior	2,50	0,00
Tibial derecho anterior	2,50	0,00
Paraspinales lumbares	3,00	0,00

Ejemplo 19: Efecto *in vivo* de la inhibición antisentido de ARNm con repeticiones CUG mediante administración intramuscular en ratones transgénicos

[0373] Se evaluó el efecto de la inhibición antisentido de transcripciones de ARNm que contienen múltiples repeticiones CUG sobre la miotonía en ratones HSA^{LR}. Tres oligonucleótidos antisentido dirigidos a las repeticiones CUG y con longitudes variables se analizaron para determinar su eficacia en la inhibición de la miotonía en los ratones. ISIS 444745 (AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA (SEQ ID NO: 789) es un oligonucleótido 2'-O-metoxietil uniforme, de 25 nucleótidos de longitud y con un esqueleto de fosforotioato. ISIS 444746 (AGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (SEQ ID NO: 790-O) es un uniforme -metoxietiloligonucleótido, 20 nucleótidos de longitud y con un esqueleto de fosforotioato. ISIS 444749 (GCAGCAGCAGCAGCA (SEQ ID NO: 791) es un oligonucleótido uniforme 2'-O-metoxietil, ¹⁵Nucleótidos de longitud y con un esqueleto de fosforotioato. ISIS 445236 fue incluido en el ensayo como control positivo.

Tratamiento

[0374] Los ratones HSA^{LR} se dividieron en tres grupos de tratamiento. Los grupos recibieron inyecciones intramusculares directas de ISIS 444745, ISIS 444746 o ISIS 444749 a una dosis de 0,4 nM en el músculo tibial anterior. el músculo tibial anterior contralateral en cada ratón recibió una dosis única de inyección intramuscular de PBS. El músculo inyectado con PBS actuó como control.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

[0375] Veinticuatro horas después de la administración final, los animales fueron sacrificados y se aisló tejido del tibial anterior (izquierdo y derecho). El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de la actina alfa 1 y se normalizó a ARN de 18 s. Como se presenta en la Tabla 33, solo el tratamiento con ISIS 444745 redujo la expresión de transcripción de ARN de actina alfa humana. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del transcrito de actina alfa1, en relación con el control PBS.

Tabla 33: Porcentaje de inhibición del transcrito de ARN de actina alfa 1 humano en ratones HSA^{LR}

ISIS N°	% de inhibición
444745	51
444746	0
444749	12

Ejemplo 20: Inhibición dependiente de la dosis *in vivo* de ARNm con repeticiones CUG por administración intramuscular en ratones transgénicos

[0376] ISIS 444745 e ISIS 444746 se evaluaron adicionalmente para determinar su capacidad. para reducir el ARNm de la actina alfa 1 humana *in vivo*.

Tratamiento

[0377] Los ratones HSA^{LR} se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron *ad libitum* con pienso de ratón Purina normal. Los animales se aclimataron durante al menos 7 días en las instalaciones de investigación antes del inicio del experimento. Los oligonucleótidos antisentido (ASO) se prepararon en PBS y se esterilizaron por filtración a través de un filtro de 0,2 micras. Los oligonucleótidos se disolvieron en PBS al 0,9% para inyección.

[0378] Los ratones se dividieron en grupos de tratamiento. Tres de los grupos recibieron inyecciones intramusculares directas de ISIS 444745 a dosis de 0,2 nM, 0,5 nM o 1,0 nM en el músculo tibial anterior en un lado. Otros tres grupos dirigen inyecciones intramusculares de ISIS 444746 a dosis de 0,2 nM, 0,5 nM o 1,0 nM en el músculo tibial anterior en un lado. El músculo tibial anterior contralateral en cada ratón recibió una dosis única de inyección intramuscular de PBS. El músculo inyectado con PBS actuó como control para el músculo correspondiente tratado con el oligonucleótido ISIS.

Evaluación de la miotonía por electromiografía

[0379] La electromiografía en los cuádriceps izquierdo y derecho, los músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, los músculos tibiales anteriores izquierdo y derecho y los músculos paraespinales lumbares se realizó como se describió anteriormente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) mediante el uso de electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de aguja para cada músculo. Los datos se presentan en la Tabla 34 como el grado promedio de miotonía observado en cuatro ratones de cada grupo y demuestra una reducción significativa de la miotonía en ratones tratados con ISIS 444745 o ISIS 444746. El efecto de la inhibición antisentido de alfa actina por ISIS 444745 y 444746 fue sostenido al menos durante 6 semanas.

Tabla 34: Reducción dependiente de la dosis de miotonía en músculos de ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido

	0,2 nM	0,5 nM	1,0 nM
PBS	3,00	3,00	2,33
ISIS 444745	1,67	1,00	0,33
PBS	2,50	2,00	3,00
ISIS444746	2,00	0,00	1,00

Ejemplo 21: Efecto *in vivo* de la inhibición antisentido del ARNm con repeticiones CUG por administración subcutánea en ratones transgénicos

[0380] Se evaluó el efecto de la inhibición antisentido de las transcripciones de ARNm que contienen múltiples repeticiones CUG sobre la miotonía en ratones HSA^{LR}. ISIS 445236 se incluyó en el ensayo como control positivo.

Tratamiento

[0381] Los ratones HSA^{LR} se dividieron en cinco grupos de tratamiento. Los primeros tres grupos recibieron inyecciones subcutáneas de ISIS 444745, ISIS 444746 o ISIS 444749 a una dosis de 25 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El cuarto grupo recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 4 semanas. El quinto grupo recibió inyecciones subcutáneas de ISIS 445236 a una dosis de 25 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control al que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos.

Evaluación de la miotonía por electromiografía

[0382] La electromiografía en los cuádriceps izquierdo y derecho, los músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, los músculos tibiales anteriores izquierdo y derecho y los músculos paraespinales lumbares se realizó como se describió previamente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) mediante el uso de electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de aguja para cada músculo. Los datos se presentan en la Tabla 35 como el grado promedio de miotonía observado en cuatro ratones de cada grupo.

[0383] El tratamiento con ISIS 445236 condujo a una reducción significativa en la miotonía. El tratamiento con ISIS 444745 e ISIS 444746 también dio como resultado una reducción de la miotonía en algunos de los tejidos analizados.

Tabla 35: Reducción promedio de la miotonía en varios músculos de ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido

5		PBS	ISIS 444745	ISIS 444746	ISIS 444749	ISIS 445236
	Cuádriceps izquierdo	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00
	Cuádriceps derecho	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00
10	Gastrocnemio izquierdo	3,00	2,75	3,00	3,00	0,00
	Gastrocnemio derecho	3,00	2,75	2,75	3,00	0,00
	Tibial izquierdo anterior	3,00	2,25	2,75	2,75	0,00
	Tibial derecho anterior	3,00	2,25	2,50	2,75	0,00
15	Paraspinales lumbares	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00

Ejemplo 22: Inhibición dependiente de la dosis de ARNm larga repetición CUG (ratones HSA^{LR}) y una repetición corta CUG (HSA^{SR} ratones) por administración subcutánea en ratones transgénicos

[0384] la inhibición dependiente de la dosis de transcritos de ARNm que contienen una repetición larga CUG (ratones HSA^{LR}) y una repetición CUG corta (ratones HSA^{SR}) se evaluó. Los ratones de repetición corta HSA (HSA^{SR}) expresan el transgen idéntico que los ratones HSA^{LR}, excepto que se insertan 5 repeticiones en lugar de 250 CUG en la 3' UTR. Los ratones HSA^{SR} no tienen miotonía, cambios de empalme ni ningún otro fenotipo de miotonía observable. Se usó ISIS 445236 en este ensayo.

Tratamiento

[0385] Los ratones HSA^{LR} se dividieron en cuatro grupos de tratamiento. Los primeros tres grupos recibieron inyecciones subcutáneas de ISIS 445236 a dosis de 2,5 mg/kg, 8,5 mg/kg o 25,0 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El cuarto grupo recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 4 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos. Los ratones HSA^{SR} también se dividieron en cuatro grupos y se trataron de manera similar.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

[0386] Veinticuatro horas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se extrajo tejido de los músculos cuádriceps (izquierdo y derecho), músculos gastrocnemios (izquierdo y derecho) y músculos tibiales anteriores (izquierdo y derecho) se aisló. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de la actina alfa 1 y se normalizó a ARN de 18s. Los resultados se presentan en las Tablas 36 y 37 y se expresan como porcentaje de inhibición de la transcripción de actina alfa1, en relación con el control. Se logró una mayor inhibición de la repetición larga retenida nuclearmente en el músculo de los ratones HSA^{LR} en comparación con la repetición corta no retenida nuclearmente en el músculo de los ratones HSA^{SR}.

Tabla 36: Porcentaje de inhibición del transcrito de ARN de actina alfa 1 humano en ratones HSA^{LR}

45	Dosis (mg/kg)	Cuádriceps	Gastrocnemio	Tibial anterior
	2,5	24	36	46
	8,5	53	66	59
50	25	86	86	90

Tabla 37: Porcentaje de inhibición del transcrito de ARN de actina alfa 1 humano en ratones HSA^{SR}

55	Dosis (mg/kg)	Cuádriceps	Gastrocnemio	Tibial anterior
	2,5	15	14	0
	8,5	30	11	0
60	25	59	48	54

Ejemplo 23: Inhibición antisentido *in vivo* de DMPK humana en ratones transgénicos

[0387] Los ratones LC15, Línea A, son ratones transgénicos que contienen la DMPK 3'UTR humana completa (desarrollada por Wheeler et al, Universidad de Rochester). Los ratones son la segunda generación de ratones retrocruzados a un fondo FVB. El transgen se expresa en los ratones como un ARN de repetición CUG, que se retiene en el núcleo, formando inclusiones nucleares o focos, similar al observado en muestras de tejido humano de pacientes con distrofia miotónica (DM1). Hay 350-400 repeticiones CUG en el transgen DMPK. Estos ratones muestran signos

tempranos de DM1 y no muestran ninguna miotonía en sus tejidos musculares. ISIS 445569, ISIS 444404, ISIS 444436 e ISIS 473810, que demostraron una inhibición dependiente de la dosis estadísticamente significativa *in vitro* (ver Ejemplo 5), se evaluaron su capacidad para reducir el transcrito de ARN DMPK humano *in vivo*.

5 *Tratamiento*

10 [0388] LC15, los ratones Línea A se mantuvieron en un 12 horas de luz/oscuridad ciclo y alimentados *ad libitum* de pienso normal de ratón Purina. Los animales se aclimataron durante al menos 7 días en las instalaciones de investigación antes del inicio del experimento. Los oligonucleótidos antisentido (ASO) se prepararon en PBS y se esterilizaron por filtración a través de un filtro de 0,2 micras. Los oligonucleótidos se disolvieron en PBS al 0,9% para inyección.

15 [0389] Los ratones se dividieron en cinco grupos de tratamiento. Los primeros tres grupos recibieron inyecciones subcutáneas de ISIS 445569, ISIS 444404 o ISIS 444436 a una dosis de 25 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El cuarto grupo recibió inyecciones subcutáneas de ISIS 473810 a una dosis de 12,5 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El quinto grupo recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 4 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos.

20 *Inhibición del ARN DMPK*

25 [0390] Veinticuatro horas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se aisló el tejido de los músculos cuádriceps. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de DMPK y se normalizó a ARN de 18s. Como se presenta en la Tabla 38, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo la expresión del transcrito de ARN DMPK humano. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición de la transcripción DMPK, en relación con el control PBS.

Tabla 38: Inhibición antisentido del transcrito de ARN DMPK humano en ratones LC15

30

ISIS N°	mg/kg/semana	% de inhibición
444404	50	20
444404	50	55
444436	50	41
473810	25	56

35

Evaluación de la miotonía por electromiografía

40 [0391] La electromiografía en los cuádriceps izquierdo y derecho, los músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, los músculos tibial anterior izquierdo y derecho y los músculos paraespinales lumbares se realizó como se describió previamente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) mediante el uso de electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de aguja para cada músculo. Dado que los ratones LC15 no tienen miotonía, ni el grupo de control ni los grupos de tratamiento mostraron miotonía en ningún músculo probado.

45 **Ejemplo 24: Inhibición antisentido *in vivo* de DMPK humana en ratones transgénicos**

50 [0392] Los ratones LC15, Línea D, son ratones transgénicos que contienen la DMPK 3'UTR humana completa (desarrollada por Wheeler et al, Universidad de Rochester). Los ratones son la tercera generación de ratones retrocruzados a un fondo FVB. El transgen se expresa en los ratones como un ARN de repetición CUG, que se retiene en el núcleo, formando inclusiones nucleares o focos, similar al observado en muestras de tejido humano de pacientes con distrofia miotónica (DM1). Hay 350-400 repeticiones CUG en el transgen DMPK. Estos ratones muestran signos tempranos de DM1 y no muestran ninguna miotonía en sus tejidos musculares.

55 [0393] ISIS 445569, ISIS 444404, ISIS 444436 e ISIS 473810 se evaluaron adicionalmente por su capacidad para reducir el transcrito de ARN DMPK humano *in vivo*.

Tratamiento

60 [0394] Los ratones LC15, Line D se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron *ad libitum* con comida normal para ratones Purina. Los animales se aclimataron durante al menos 7 días en las instalaciones de investigación antes del inicio del experimento. Los oligonucleótidos antisentido (ASO) se prepararon en PBS y se esterilizaron por filtración a través de un filtro de 0,2 micras. Los oligonucleótidos se disolvieron en PBS al 0,9% para inyección.

65 [0395] Los ratones se dividieron en seis grupos de tratamiento. Los primeros tres grupos recibieron inyecciones

subcutáneas de ISIS 445569, ISIS 444404 o ISIS 444436 a una dosis de 25,00 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El cuarto grupo recibió inyecciones subcutáneas de ISIS 473810 a una dosis de 12,50 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El quinto grupo recibió inyecciones subcutáneas de ISIS 473810 a una dosis de 6,25 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. El sexto grupo recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 4 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos.

Inhibición del ARN DMPK

[0396] Veinticuatro horas después de la dosis final, los animales fueron sacrificados y se aisló el tejido de los músculos cuádriceps. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo real de DMPK y se normalizó a ARN de 18s. Como se presenta en la Tabla 39, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo la expresión del transcrito de ARN DMPK humano. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición de la transcripción DMPK, en relación con el control PBS.

[0397] Los resultados indican que el tratamiento con los oligonucleótidos antisentido dio como resultado la inhibición de DMPK ARNm en los ratones.

Tabla 39: Inhibición antisentido del transcrito de ARN DMPK humano en ratones LC15

ISIS N°	mg/kg/semana	% de inhibición
444404	50,00	24
444404	50,00	30
444436	50,00	17
473810	25,00	7
473810	12,50	18

Evaluación de la miotonía por electromiografía

[0398] La electromiografía en los cuádriceps izquierdo y derecho, los músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, los músculos tibiales anteriores izquierdo y derecho y los músculos paraespinales lumbares se realizó como se describió anteriormente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) mediante el uso de electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de aguja para cada músculo. Dado que los ratones LC15 no tienen miotonía, ni el grupo de control ni los grupos de tratamiento mostraron miotonía en ningún músculo probado.

Ejemplo 25: Inhibición antisentido *in vivo* de DMPK humana en el modelo de ratón transgénico SXL

[0399] Utilizando ASOs 444401 y 299471 dirigidos a hDMPK en el músculo sóleo se midió en ratones SXL. El ratón SXL es transgénico para todo el gen DMPK y el promotor y contiene una secuencia de repetición de 1000 CUG en el 3'UTR del gen DMPK. Los ratones recibieron una dosis de 50 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas ($n = 3$ ratones por grupo, excepto $n = 2$ para los controles inyectados con solución salina). Los resultados de los ensayos Taqman demostraron que el tratamiento con ISIS 444401 o ISIS 299471 redujo significativamente los niveles de ARNm de mut-hDMPK pero tuvo un efecto insignificante sobre los niveles de ARNm de Dmpk de ratón endógeno.

[0400] Por lo tanto, ISIS 444401 e ISIS 299471 se dirigen selectivamente a la transcripción de ARNm DMPK humano.

Ejemplo 26: Duración de la acción de la inhibición antisentido por un oligonucleótido dirigido a la actina alfa 1 humana en ratones transgénicos

[0401] Se evaluó la duración de la acción de la inhibición antisentido del transcrito de ARN de actina alfa humana por ISIS 190401 en ratones HSA^{LR}.

Tratamiento

[0402] Los ratones HSA^{LR} recibieron inyecciones subcutáneas de ISIS 190401 a una dosis de 25 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. Un grupo de control recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces por semana durante 4 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como el grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótidos. Los ratones fueron analizados 15 semanas después de la administración de la última dosis.

Inhibición del ARN de actina alfa 1

[0403] Quince semanas después de la dosis final, se sacrificaron los animales y se aisló tejido de los músculos cuádriceps, músculos gastrocnemios y músculos tibiales anteriores. El ARN se aisló para el análisis por PCR en tiempo

real de la actina alfa 1 y se normalizó a ARN de 18 s. Como se presenta en la Tabla 40, el tratamiento con ISIS 190401 redujo la expresión del transcrito de ARN de actina alfa humana, y este efecto se mantuvo al menos durante 15 semanas. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del transcrito de actina alfa1, en relación con el control PBS.

5 [0404] El tratamiento con ISIS 190401 dio como resultado una inhibición significativa de los niveles de ARNm de alfa actina en las condiciones especificadas anteriormente.

10 **Tabla 40:** Inhibición antisentido del transcrito de ARN de actina alfa 1 humano en ratones HSA^{LR}

Tipo de músculo	% de inhibición
Cuádriceps	74
Gastrocnemio	81
Tibial anterior	75

15 *Evaluación de la miotonía por electromiografía*

20 [0405] La electromiografía en los cuádriceps izquierdo y derecho, los músculos gastrocnemios izquierdo y derecho, los músculos tibial anterior izquierdo y derecho y los músculos paraespinales lumbares se realizó como se describió previamente (Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980) mediante el uso de electrodos de aguja concéntricos de calibre 30 y un mínimo de 10 inserciones de aguja para cada músculo. Los datos se presentan en la Tabla 41 como el grado de miotonía promedio observado en cuatro ratones de cada grupo y demuestra una reducción significativa de la miotonía en ratones tratados con ISIS 190401. Por lo tanto, el efecto de la inhibición antisentido de alfa actina por ISIS 190401 se mantuvo al menos durante 15 semanas.

25 **Tabla 41:** Reducción promedio de la miotonía en varios músculos de ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido

	PBS	ISIS 190401
Cuádriceps izquierdo	3,0	0,0
Cuádriceps derecho	3,0	0,0
Gastrocnemio izquierdo	2,5	0,0
Gastrocnemio derecho	2,5	0,0
Tibial izquierdo anterior	2,5	0,0
Tibial derecho anterior	2,5	0,0
Paraspinales lumbares	2,5	0,0

30 *Corrección del empalme alternativo*

35 [0406] Para evaluar el efecto de ISIS 190401 sobre el empalme alternativo de *Sercaf*, ARN total purificado del tibnecro anterior gastrocnemio y músculo cuádriceps analizado en un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 13.

40 [0407] En ratones HSA^{LR} tratados con PBS, el empalme *sercaf* está desregulado como se demuestra por exclusión del exón 22. El tratamiento con ISIS 190401 resultó en la inclusión completa y la normalización del empalme alternativo del exón 22 del gen *Sercaf* en los tres tipos de músculos, que se mantuvo incluso después de 15 semanas.

45 [0408] Por lo tanto, la inhibición antisentido de la actina alfa 1 corrigió la desregulación de empalme de *Sercaf*, lo que indica que el tratamiento con oligonucleótido antisentido redujo la acumulación de CUGexp en los focos nucleares. La acumulación reducida de CUGexp en los focos nucleares corrige el secuestro de MBLN1 permitiendo así que ocurra el empalme normal.

50 **Ejemplo 27: Análisis de micromatrices del efecto transcriptómico de la inhibición antisentido de la actina humana**

55 [0409] La expresión de ARNm de actina con repeticiones CUG expandidas provoca una remodelación extensa del transcriptoma muscular. Para evaluar los efectos transcriptómicos generales de ISIS 190401 e ISIS 445236, se utilizaron análisis de micromatrices en ratones HSA^{LR}.

60 *Tratamiento*

65 [0410] Los ratones HSA^{LR} recibieron inyecciones subcutáneas de ISIS 190401 o ISIS 445236 a una dosis de 25 mg/kg dos veces por semana durante 4 semanas. Un grupo de control recibió inyecciones subcutáneas de PBS dos veces

por semana durante 4 semanas. El grupo inyectado con PBS sirvió como grupo de control con el que se comparó el grupo tratado con oligonucleótido.

Análisis de transcriptoma por micromatriz

5
 [0411] Se aisló ARN del músculo cuádriceps de ratones de tipo salvaje o HSA^{LR}. La integridad del ARN se verificó utilizando un bioanalizador Agilent (número de integridad del ARN > 7,5). El ARN se procesó en ARN complementario (ARNc) y se hibridó en microperlas utilizando los kits MouseRef-8 v2,0 Expression BeadChip (Illumina, San Diego), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Los datos de imagen se cuantificaron utilizando el software
 10 BeadStudio (Illumina). Las intensidades de señal fueron cuantiles normalizadas. Se utilizaron compensaciones específicas de fila para evitar cualquier valor de menos de 2 antes de la normalización. Los datos de todos los conjuntos de sondas con 6 o más nucleótidos de repeticiones CUG, UGC o GCU se suprimieron para eliminar la posibilidad de que las repeticiones expandidas en la mezcla de hibridación (Repeticiones CAG en ARNc que se originan a partir de repeticiones CUG en el ARNm) pudieran hibridarse con secuencias repetidas en las sondas para
 15 eliminar los genes cuya expresión no se cuantificó fácilmente en las matrices, se suprimieron las sondas que mostraban un valor de p para la probabilidad de detección de $< 0,1$ en todas las muestras. Las comparaciones entre grupos se resumieron y ordenaron por rango mediante cambios de pliegue del nivel de expresión medio y las pruebas t . El paquete de software R (Butler et al. Diabetes. 2002; 51: 1028-34) se utilizó para realizar análisis de componentes principales (Levin et al. En Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Applications, ST Crooke, Ed. (CRC Press, Boca Raton, 2008), pp 183-215; Geary et al. Drug Metab. Dispos, 2003; 31: 1419-28) en muestras de
 20 microarrays de tipo salvaje, tratados con oligonucleótidos ISIS y tratados con PBS. Los componentes principales permitieron la captura de la mayoría de la variación de expresión en cada muestra dentro de 3 dimensiones. Se trazaron los primeros tres componentes principales de cada muestra.

25 [0412] El análisis del componente principal de ratones de tipo salvaje y HSA^{LR} no tratados demostró la segregación de HSA^{LR} lejos de los ratones de tipo salvaje, en grupos ampliamente separados. En contraste, los ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido se agruparon más estrechamente con los ratones de tipo salvaje, lo que sugiere una tendencia general a la normalización del transcriptoma. Las comparaciones de ratones transgénicos HSA^{LR} con ratones de tipo salvaje identificaron 93 transcripciones cuyos niveles de expresión se alteraron más de dos
 30 veces ($P < 0,0001$), como se presenta en la Tabla 42 a continuación. El grado de desregulación para estas transcripciones se redujo o normalizó para los oligonucleótidos antisentido (el 88% de las transcripciones desreguladas respondieron a ISIS 445236, $p < 0,05$ para ISIS 445236 frente al control de PBS, mientras que el 90% respondió a ISIS 190401).

35 [0413] Para considerar las transcripciones que tienen una caída fuera del objetivo, se identificaron todas las transcripciones cuya expresión se redujo en ratones HSA^{LR} tratados con oligonucleótidos antisentido (>reducción de dos veces por cualquiera de los oligonucleótidos, $p < 0,0001$, $n = 41$ transcripciones). Todas las transcripciones que fueron reguladas negativamente por estos criterios demostraron una regulación positiva en ratones HSA^{LR}. La única excepción, el *colágeno 6 alfa2*, es poco probable que resulte de la escisión fuera del objetivo porque estaba regulada
 40 por los dos oligonucleótidos antisentido con secuencias no superpuestas.

[0414] Estos resultados indican que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido durante 4 semanas dio como resultado una mejora general del transcriptoma muscular sin ninguna evidencia de efectos fuera de la diana.

Tabla 42: Las comparaciones de ratones transgénicos HSA^{LR} con ratones de tipo salvaje identificaron 93 transcripciones

Transcripción	Cambio de vez HSA ^{LR} salina vs. WT	Prueba t Salina HSA ^{LR} vs WT	Cambio de vez HSA ^{LR} 190104 vs. salina HSA ^{LR}	Prueba t HSA ^{LR} 190401 vs. salina HSA ^{LR}	Cambio de vez HSA ^{LR} 190401 vs. WT	prueba de la t HSA ^{LR} -190401 vs. WT	Cambio de vez HSA ^{LR} 445236 vs. salina HSA ^{LR}	Prueba t HSA ^{LR} 445236 vs. salina HSA ^{LR}	Cambio de vez HSA ^{LR} 445236 vs. WT	Prueba t HSA ^{LR} -445236 vs. WT
OSBPL10	15,11	0,0000	0,46	0,0023	6,95	0,0008	0,39	0,0007	5,92	0,0002
FBXL13	12,12	0,0000	0,49	0,0159	5,91	0,0385	0,65	0,0255	7,93	0,0026
NGFR	11,57	0,0000	0,23	0,0001	2,66	0,0314	0,16	0,0000	1,84	0,0133
SLC1A1	9,39	0,0000	0,39	0,0001	3,66	0,0001	0,30	0,0001	2,85	0,0116
CXADR	9,13	0,0000	0,14	0,0000	1,30	0,6119	0,21	0,0001	1,94	0,2244
NFATC2	8,48	0,0000	0,32	0,0002	2,67	0,0043	0,22	0,0001	1,84	0,0394
ATP1B4	7,02	0,0000	0,24	0,0000	1,68	0,0021	0,24	0,0000	1,70	0,0091
UCLH1	6,80	0,0000	0,71	0,0168	4,86	0,0005	0,72	0,1187	4,91	0,0090
TEAD4	6,76	0,0000	0,50	0,0030	3,39	0,0085	0,30	0,0004	2,06	0,1213
TAS1R ₁	6,72	0,0000	0,28	0,0003	1,91	0,1857	0,43	0,0002	2,88	0,0047
MUSTN1	6,52	0,0000	0,31	0,0000	2,01	0,0006	0,33	0,0000	2,15	0,0115
IRF5	6,01	0,0000	0,21	0,0000	1,28	0,0556	0,33	0,0001	1,96	0,0035
CRIP3	5,82	0,0000	0,33	0,0000	1,92	0,0151	0,29	0,0001	1,67	0,1470
TAL2	5,75	0,0000	0,20	0,0001	1,13	0,7717	0,36	0,0002	2,08	0,0274
ORF63	5,39	0,0000	0,27	0,0001	1,45	0,0206	0,47	0,0018	2,51	0,0066
COPG	5,05	0,0000	0,30	0,0000	1,53	0,0218	0,25	0,0001	1,25	0,3617
CAMK1D	4,92	0,0000	0,23	0,0002	1,12	0,8157	0,27	0,0000	1,32	0,2449
HSPA2	4,76	0,0000	0,43	0,0000	2,02	0,0079	0,42	0,0000	2,02	0,0197
CAMK2D	4,70	0,0000	0,36	0,0001	1,70	0,0493	0,45	0,0004	2,12	0,0095
CNTNAP2	4,49	0,0000	0,58	0,0001	2,59	0,0000	0,67	0,0007	3,02	0,0000
TTC7	4,33	0,0000	0,38	0,0000	1,63	0,0085	0,68	0,0468	2,96	0,0126
CD276	4,08	0,0001	0,36	0,0001	1,47	0,1613	0,59	0,0029	2,39	0,0072

(Continuación)

Transcripción	Cambio de vez HSALR salina vs. WT	Prueba t Salina HSALR vs WT	Cambio de vez HSALR 190104 vs. salina HSALR	Prueba t HSALR 190401 vs. salina HSALR	Cambio de vez HSALR 190401 vs. WT	prueba de la t HSALR-190401 vs. WT	Cambio de vez HSALR 445236 vs. salina HSALR	Prueba t HSALR 445236 vs. salina HSALR	Cambio de vez HSALR 445236 vs. WT	Prueba t HSALR-445236 vs. WT
USH1C	4,07	0,0000	0,50	0,0011	2,04	0,0077	0,38	0,0029	1,55	0,2881
LRP11	4,03	0,0000	0,55	0,0017	2,24	0,0011	0,55	0,0006	2,23	0,0000
PHLDA3	3,96	0,0000	0,40	0,0001	1,60	0,0019	0,36	0,0001	1,42	0,0609
HSPB7	3,80	0,0000	0,30	0,0000	1,14	0,5358	0,30	0,0000	1,15	0,4474
TRIT1	3,74	0,0000	0,43	0,0000	1,62	0,0003	0,31	0,0000	1,16	0,1043
PCNX	3,66	0,0000	0,37	0,0002	1,34	0,1628	0,42	0,0001	1,53	0,0105
3632451O06RIK	3,51	0,0000	0,81	0,1094	2,83	0,0025	0,71	0,0015	2,51	0,0002
AMHR2	3,46	0,0000	0,45	0,0001	1,56	0,0037	0,52	0,0003	1,79	0,0016
SNX13	3,27	0,0000	0,47	0,0000	1,55	0,0007	0,44	0,0000	1,42	0,0003
ATP9A	3,26	0,0000	0,60	0,0001	1,96	0,0024	0,42	0,0002	1,38	0,2009
D030028O16RIK	3,22	0,0000	0,53	0,0011	1,70	0,0104	0,48	0,0001	1,56	0,0007
RPS6KA3	3,09	0,0000	0,38	0,0000	1,17	0,1845	0,44	0,0001	1,37	0,0321
GCA	3,00	0,0000	0,70	0,0031	2,09	0,0005	0,74	0,0103	2,22	0,0006
PACRG	2,89	0,0001	0,51	0,0002	1,46	0,0063	0,46	0,0001	1,34	0,0229
SPSB2	2,88	0,0001	0,33	0,0000	0,95	0,6599	0,37	0,0000	1,07	0,6216
POU4F1	2,83	0,0000	0,42	0,0000	1,19	0,2046	0,60	0,0007	1,68	0,0074
STRN4	2,72	0,0000	0,38	0,0000	1,03	0,8900	0,46	0,0000	1,25	0,2128
NCAM1	2,67	0,0001	0,70	0,0259	1,87	0,0135	0,54	0,0006	1,43	0,0343
A930018M24Rik	2,65	0,0001	0,58	0,0058	1,53	0,0727	0,43	0,0002	1,13	0,3919
TUBA4A	2,60	0,0000	0,42	0,0000	1,09	0,1806	0,50	0,0000	1,31	0,0041
1AP	2,57	0,0000	0,57	0,0002	1,46	0,0108	0,59	0,0016	1,52	0,0333
ANKRD40	2,56	0,0000	0,63	0,0155	1,60	0,0683	0,57	0,0002	1,46	0,0047

(Continuación)

Transcripción	Cambio de vez HSALR salina vs. WT	Prueba t Salina HSALR vs WT	Cambio de vez HSALR 190104 vs. salina HSALR	Prueba t HASLR 190401 vs. salina HSALR	Cambio de vez HSALR 190401 vs. WT	prueba de la t HSALR-190401 vs. WT	Cambio de vez HSALR 445236 vs. salina HSALR	Prueba t HSALR 445236 vs. salina HSALR	Cambio de vez HSALR 445236 vs. WT	Prueba t HSALR-445236 vs. WT
UVRAG	2,48	0,0000	0,59	0,0000	1,48	0,0005	0,52	0,0000	1,28	0,0165
HIST1H4H	2,46	0,0001	0,55	0,0001	1,34	0,0474	0,65	0,0014	1,60	0,0125
EPS15	2,44	0,0000	0,61	0,0001	1,50	0,0057	0,77	0,0043	1,87	0,0007
PANX1	2,41	0,0001	0,46	0,0004	1,11	0,4311	0,36	0,0000	0,87	0,0561
CALML4	2,41	0,0001	0,45	0,0008	1,10	0,6994	0,67	0,0154	1,62	0,0538
ASPH	2,40	0,0000	0,40	0,0000	0,95	0,6969	0,44	0,0000	1,05	0,7267
CREB3L2	2,37	0,0001	0,71	0,0287	1,67	0,0416	0,65	0,0051	1,54	0,0410
TRAF3	2,32	0,0001	0,50	0,0001	1,16	0,2851	0,57	0,0001	1,32	0,0481
CMYA1	2,30	0,0000	0,44	0,0007	1,02	0,9450	0,44	0,0000	1,01	0,9265
ADAMTSL5	2,30	0,0001	0,48	0,0000	1,11	0,3365	0,53	0,0004	1,22	0,1827
HS2ST1	2,27	0,0001	0,64	0,0002	1,44	0,0223	0,74	0,0041	1,68	0,0062
HIST1H4J	2,21	0,0000	0,59	0,0000	1,31	0,0283	0,72	0,0002	1,60	0,0023
SPSB1	2,20	0,0000	0,53	0,0005	1,16	0,2409	0,48	0,0000	1,05	0,3088
LANCL1	2,20	0,0000	0,63	0,0002	1,39	0,0002	0,66	0,0006	1,46	0,0005
KCNC4	2,16	0,0000	0,91	0,3892	1,96	0,0036	0,98	0,8712	2,12	0,0029
PRRC1	2,16	0,0000	0,57	0,0001	1,23	0,0324	0,59	0,0000	1,26	0,0070
MID1IP1	2,13	0,0001	1,27	0,0161	2,70	0,0001	1,09	0,4336	2,32	0,0014
DICER1	2,13	0,0000	0,65	0,0006	1,39	0,0051	0,69	0,0018	1,47	0,0035
IKKB	2,10	0,0001	0,74	0,0240	1,56	0,0262	0,78	0,0039	1,64	0,0015
D5WSU178E	2,10	0,0000	0,86	0,1447	1,80	0,0049	0,88	0,0352	1,84	0,0002
ZFP106	2,08	0,0000	0,53	0,0000	1,11	0,1324	0,58	0,0002	1,20	0,0706
B930041F14RIK	2,06	0,0000	0,71	0,0002	1,47	0,0000	0,72	0,0030	1,49	0,0025

(Continuación)

Transcripción	Cambio de vez HSALR salina vs. WT	Prueba t Salina HSALR vs WT	Cambio de vez HSALR 190104 vs. salina HSALR	Prueba t HASLR 190401 vs. salina HSALR	Cambio de vez HSALR 190401 vs. WT	prueba de la t HSALR-190401 vs. WT	Cambio de vez HSALR 445236 vs. salina HSALR	Prueba t HSALR 445236 vs. salina HSALR	Cambio de vez HSALR 445236 vs. WT	Prueba t HSALR-445236 vs. WT
FHL1	2,04	0,0000	0,58	0,0000	1,17	0,1332	0,40	0,0000	0,81	0,0815
UHRF1BP1L	2,04	0,0001	0,78	0,0315	1,59	0,0071	0,68	0,0024	1,38	0,0151
PHCA	2,02	0,0000	0,64	0,0001	1,29	0,0354	0,74	0,0070	1,50	0,0145
B230312A22RIK	2,02	0,0000	0,79	0,0022	1,59	0,0004	0,77	0,0019	1,56	0,0007
PPP2R5C	2,01	0,0000	0,59	0,0001	1,16	0,0161	0,66	0,0017	1,32	0,0177
UCK2	2,01	0,0001	0,70	0,0004	1,41	0,0129	0,64	0,0001	1,28	0,0510
LEPROTL1	0,50	0,0000	1,45	0,0013	0,72	0,0004	1,47	0,0011	0,73	0,0005
COPS7A	0,49	0,0000	1,35	0,0645	0,66	0,0039	1,49	0,0026	0,73	0,0016
PRM17	0,48	0,0001	1,51	0,2023	0,73	0,1585	1,34	0,0445	0,65	0,0002
LDB3	0,47	0,0000	1,55	0,0550	0,73	0,0607	1,57	0,0010	0,74	0,0055
LOC10_0046120	0,47	0,0000	1,31	0,0077	0,61	0,0000	1,27	0,0381	0,60	0,0002
LOC677317	0,45	0,0001	1,49	0,0004	0,68	0,0012	1,93	0,0011	0,88	0,2082
LDB2	0,45	0,0000	1,73	0,0424	0,78	0,1234	1,23	0,0817	0,56	0,0000
SUM03	0,44	0,0000	1,70	0,0123	0,74	0,0223	1,37	0,0960	0,60	0,0023
LRRC24	0,43	0,0001	1,89	0,0009	0,82	0,0212	1,42	0,0898	0,61	0,0041
HNRPH1	0,42	0,0000	1,64	0,0077	0,69	0,0094	1,70	0,0057	0,71	0,0144
ARMETL1	0,38	0,0000	2,58	0,0000	0,98	0,7666	2,70	0,0000	1,02	0,7109
LOC10_0041504	0,37	0,0000	2,02	0,0001	0,75	0,0061	1,84	0,0040	0,68	0,0094
MMP9	0,32	0,0000	2,40	0,0006	0,77	0,0340	1,37	0,1834	0,44	0,0009
CBFB	0,28	0,0000	2,66	0,0304	0,75	0,1852	1,94	0,0056	0,55	0,0004
MDH2	0,24	0,0000	1,20	0,0473	0,29	0,0000	1,12	0,1037	0,27	0,0000
APCDD1	0,20	0,0000	1,98	0,2157	0,39	0,0059	4,55	0,0001	0,90	0,2873

(Continuación)

Transcripción	Cambio de vez HSALR salina vs. WT	Prueba t Salina HSALR vs WT	Cambio de vez HSALR 190104 vs. salina HSALR	Prueba t HASLR 190401 vs. salina HSALR	Cambio de vez HSALR 190401 vs. WT	prueba de la t HSALR-190401 vs. WT	Cambio de vez HSALR 445236 vs. salina HSALR	Prueba t HSALR 445236 vs. salina HSALR	Cambio de vez HSALR 445236 vs. WT	Prueba t HSALR-445236 vs. WT
LOC654842	0,19	0,0000	1,28	0,1712	0,24	0,0000	1,07	0,8807	0,20	0,0001
F2RL3	0,15	0,0000	5,78	0,0001	0,86	0,1901	4,92	0,0004	0,73	0,0310
EIF3H	0,13	0,0000	1,99	0,2185	0,26	0,0001	1,86	0,1997	0,24	0,0000
AVIL	0,12	0,0000	4,22	0,0156	0,52	0,0081	1,88	0,2270	0,23	0,0001
ACTC1	0,08	0,0000	1,42	0,0346	0,11	0,0000	6,07	0,0098	0,48	0,0087

LISTA DE SECUENCIAS

[0415]

5	<110>C. Frank Bennett Susan M. Freier Robert A. MacLeod Sanjay K. Pandey
10	Charles A. Thornton Thurman Wheeler Seng H. Cheng Andrew Leger Bruce M. Wentworth
15	<120> MODULACIÓN DE LA DISTROFIA EXPRESIÓN DE MIOTÓNICA-PROTEÍNA QUIINASA (DMPK) <130>BIOL0134WO
20	<140>PCT/US2011/044555 <141>2011-07-19
25	<150>61/365,775 <151>2010-07-19
30	<150>61/365,762 <151>2010-07-19
35	<150>61/478,021 <151>2011-04-21
40	<160>837 <170>FastSEQ para Windows Versión 4,0
	<210>1 < 211>2877 <212>ADN <213>Homo sapiens
	<400>1

ES 2 756 326 T3

	aggggggctg	gaccaagggg	tggggagaag	gggaggaggc	ctcggccggc	cgcagagaga	60
	agtggccaga	gaggcccagg	ggacagccag	ggacaggcag	acatgcagcc	agggctccag	120
5	ggcctggaca	ggggctgcca	ggccctgtga	caggaggacc	ccgagccccc	ggcccgggga	180
	ggggccatgg	tgctgctgt	ccaacatgtc	agccgaggtg	cggctgaggc	ggctccagca	240
	gctggtggtg	gacccgggct	tcctggggct	ggagcccctg	ctcgcacctc	tcctggggcgt	300
	ccaccaggag	ctgggcgcct	ccgaactggc	ccaggacaag	tacgtggccg	acttcttgca	360
	gtgggcggag	cccatcgtgg	tgaggcttaa	ggaggccga	ctgcagaggg	acgacttcga	420
10	gattctgaag	gtgatcggac	gcgggcggtt	cagcgaggta	gcggtagtga	agatgaagca	480
	gacgggcccag	gtgtatgcca	tgaagatcat	gaacaagtgg	gacatgctga	agaggggcca	540
	ggtgtcgtgc	ttccgtgagg	agagggacgt	gttggtgaat	ggggaccggc	ggtggatcac	600
	gcagctgcac	ttcgccttcc	aggatgagaa	ctacctgtac	ctggtcatgg	agtattacgt	660
	gggcggggac	ctgctgacac	tgctgagcaa	gtttggggag	cggattccgg	ccgagatggc	720
	gcgcttctac	ctggcggaga	ttgtcatggc	catagactcg	gtgcaccggc	ttggctacgt	780
15	gcacagggag	atcaaacccg	acaacatcct	agctggaccg	tgtggccaca	tcgcctggc	840
	cgacttcggc	tcttgccctca	agctgcgggc	agatggaacg	gtcggctcgc	tggtggctgt	900
	gggcacccca	gactacctgt	cccccgagat	cctgcaggct	gtgggcgggtg	ggcctgggac	960
	aggcagctac	gggcccagat	gtgactgggtg	ggcgtgggtg	gtattcgct	atgaaatgtt	1020
20	ctatgggcag	acgcccctct	acgcggttc	cacggcggag	acctatggca	agatcgtcca	1080
	ctacaaggag	cacctctctc	tgccgctggt	ggacgaaggg	gtccctgagg	aggctcgaga	1140
	cttcattcag	cggttgctgt	gtcccccgga	gacacggctg	ggccgggggtg	gagcaggcca	1200
	cttccggaca	catcccttct	tctttggcct	cgactgggat	ggtctccggg	acagcgtgca	1260
	cccctttaca	ccgatttcg	aagtgccac	cgacacatgc	aacttcgact	tggtggagga	1320
25	cgggctcact	gccatggaga	cactgtcgga	cattcgggaa	ggtgcgccgc	taggggtcca	1380
	cctgcctttt	gtgggctact	cctactcctg	catggccctc	agggacagtg	aggtcccagg	1440
	ccccacaccc	atggaactgg	aggccgagca	gctgcttgag	ccacacgtgc	aagcggcccag	1500
30	cctggagccc	tcggtgtccc	cacaggatga	aacagctgaa	gtggcagttc	cagcggctgt	1560
	ccctgcggca	gaggctgagg	ccgaggtgac	gctgcgggag	ctccaggaag	ccctggagga	1620
	ggaggtgctc	acccggcaga	gcctgagccg	ggagatggag	gccatccgca	cggacaacca	1680
	gaacttcgcc	agtcaactac	gcgaggcaga	ggctcggaac	cgggacctag	aggcacacgt	1740
	ccggcagttg	caggagcggg	tggagttgct	gcaggcagag	ggagccacag	ctgtcacggg	1800
35	ggtccccagt	ccccgggcca	cggatccacc	ttcccatcta	gatggccccc	cggccgtggc	1860
	tgtggggccag	tgcccgtggt	tggggccagg	ccccatgcac	cgccgccacc	tgctgctccc	1920
	tgccaggggtc	cctaggcctg	gcctatcgga	ggcgctttcc	ctgctcctgt	tcgcccgtgt	1980
	tctgtctcgt	gccgcccggc	tgggctgcat	tgggttggtg	gcccacggcg	gccaactcac	2040
	cgcagtctgg	cgccgcccag	gagccgcccg	cgctccctga	accctagaac	tgtcttcgac	2100
40	tccggggccc	cgttggaaga	ctgagtgcc	ggggcacggc	acagaagccg	cgcccaccgc	2160
	ctgccagttc	acaaccgctc	cgagcgtggg	tctccgccc	gctccagtc	tgtgatccgg	2220
	gcccggcccc	tagcggccgg	ggagggaggg	gcccgggtccg	cggccggcga	acggggctcg	2280
	aagggtcctt	gtagccggga	atgctgctgc	tgctgctgct	gctgctgctg	ctgctgctgc	2340
	tgctgctgct	gctgctgctg	ctggggggat	cacagaccat	ttctttcttt	cggccaggct	2400
45	gaggccctga	cgtggatggg	caaactgcag	gcctgggaag	gcagcaagcc	gggcccgtccg	2460
	tgttccatcc	tccacgcacc	cccacctatc	ggtggttcgc	aaagtgcaaa	gcttcttctgt	2520
	gcatgacgcc	ctgctctggg	gagcgtctgg	cgcgatctct	gcctgcttac	tcgggaaatt	2580
	tgcttttgcc	aaaccgctt	tttcggggat	cccgcgcccc	cctcctcaot	tcgctgctc	2640
	tccggagcccc	agccggctcc	gcccgcttcg	gcggttgga	tatttattga	cctcgtcctc	2700
50	cgactcgctg	acaggctaca	ggacccccaa	caaccccaat	ccacgttttg	gatgactga	2760
	gaccccgaca	ttcctcggtg	tttattgtct	gtccccacct	aggaccccc	cccccgacc	2820
	tccggaataa	aaggccctcc	atctgccc	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaa	2877

55 <210>2
 <211>14411
 <212>ADN
 <213>Homo sapiens

60 <400>2

65

ES 2 756 326 T3

ctcccagccc agcgcctccc accccttttc atagcaggaa aagccggagc ccagggaggg 60
 aacggacctg cgagtcacac aactggtgac ccacaccagc ggctggagca ggaccctctt 120
 ggggagaaga gcatcctgcc cgcagccagg gccctcatc aaagtcctcg gtgtttttta 180
 5 aattatcaga actgcccagg accacgtttc ccaggccctg cccagctggg actcctcggg 240
 ccttgcctcc tagtttctca ggcctggccc tctcaaggcc caggcacccc aggccgggtg 300
 gagggccccga cttccactct ggagaaccgt ccaccctgga aagaagagct cagattcctc 360
 ttggctctcg gagccgcagg gagtgtgtct tcccgcgcca ccctccacc cccgaaatgt 420
 10 ttctgtttct aatcccagcc tgggcaggaa tgtggctccc cggccagggg ccaaggagct 480
 attttggggg ctctgtttgcc cagggagggc ttggctccac cactttcctc ccccagcctt 540
 tgggcagcag gtcacccctg ttcaggctct gagggtgccc cctcctgggc ctgtcctcac 600
 cacccttcc ccacctcctg ggaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaagct ggtataaagc 660
 agagagcctg agggctaaat ttaactgtcc gagtcggaat ccatctctga gtcacccaag 720
 15 aagctgccct ggcctcccgt ccccttccca ggcctcaacc cttttctccc acccagcccc 780
 aacccccagc cctcaccccc tagccccag ttctggagct tgtcgggagc aaggggggtg 840
 ttgctactgg gtcactcagc ctcaattggc cctgtttcag caatgggcag gttcttcttg 900
 aaattcatca cacctgtggc ttcctctgtg ctctacctt ttattggggg gacagtgtga 960
 cagctgagat tctccatgca ttccccctac tctagcactg aagggttctg aagggccctg 1020
 20 gaaggagggg gcttgggggg ctggcttgtg aggggttaag gctgggaggc gggagggggg 1080
 ctggaccaag ggggaggag aaggggagga ggcctcggcc ggccgcagag agaagtggcc 1140
 agagaggccc aggggacagc cagggacagg cagacatgca gccagggctc cagggcctgg 1200
 acaggggctg ccaggccctg tgacaggagg accccagacc cccggcccgg ggaggggcca 1260
 25 tggtgctgcc tgtccaacat gtcagccgag gtgcggctga ggcggctcca gcagctggg 1320
 ttggacccgg gcttctctggg gctggagccc ctgctcgacc ttctcctggg cgtccaccag 1380
 gagctgggcg cctccgaact ggcccaggac aagtacgtgg ccgacttctt gcagtgggg 1440
 gagtgcctac cctcggggct cctgcagatg gggggtggggg ggggcaggag acaggtctgg 1500
 gcacagaggc ctggctgttg gggggcagg atggcaggat gggcatgggg agatcctccc 1560
 30 atcctggggc tcagagtgtg gacctgggccc ctggggcaac atttctctgt cctatgccac 1620
 cactctggag gggcagagta aggtcagcag aggttagggg ggctgtgact cagagccatg 1680
 gcttaggagt cacagcaggc taggctgcc aacagcctccc atggcctctc tgcaccccgc 1740
 ctcagggctc gggtcagggt catgctggga gctccctctc ctaggaccct cccccaaaa 1800
 35 gtgggctcta tggccctctc ccctggtttc ctgtggcctg gggcaagcca ggagggccag 1860

ES 2 756 326 T3

5 catggggcag ctgccagggg cgcagccgac aggcaggtgt tcggcgccag cctctccage 1920
 tgccccaaca ggtgccaggg cactgggagg ggggtgactc acgcgggccc tgtgggagaa 1980
 ccagctttgc agacagggcg caccagtgcc ccctcctctg cgatccagga gggacaactt 2040
 tgggttcttc tgggtgtgtc tccttctttt gtaggttctg caccaccccc cacccccage 2100
 cccaaagtct cggttcctat gagccgtgtg ggtcagccac cattcccgcg accccgggtc 2160
 cctgogtccct ttagttctcc tggcccaggg cctccaacct tccagctgtc ccacaaaacc 2220
 ccttcttgca agggctttcc agggcctggg gccagggctg gaaggaggat gcttccgctt 2280
 10 ctgccagctg ccttgtctgc ccacctctc cccaagccca ggactcgggc tcactggtca 2340
 ctgggtttctt tcattcccag caccctgccc ctctggccct catatgtctg gccctcagtg 2400
 actggtgttt ggtttttggc ctgtgtgtaa caaactgtgt gtgacacttg tttcctgttt 2460
 ctccgccttc ccctgcttcc tcttgtgtcc atctctttct gaccagggcc tggttccttt 2520
 ccctcctcct ccattttcac agatgggaag gtggaggcca agaagggcca ggccattcag 2580
 15 cctctggaaa aaccttctc caacctccca cagcccctaa tgactctctt ggctccctt 2640
 tagtagagga tgaagttggg ttggcagggg aaactgagac cgggtgggtt aggggtctgg 2700
 cgctcccggg aggagcactc cttttgtggc ccgagctgca tctcgcggcc cctcccctgc 2760
 caggcctggg gcggggggagg gggccagggg tcctgctgcc ttaaaagggc tcaatgtctt 2820
 ggctctctcc tccctcccc gtccctcagcc ctggctgggt cgteccctgt ggcccactct 2880
 20 cccggaaccc cccggaaccc ctctctttcc tccagaaccc actgtctcct ctccctccct 2940
 ccctcccat acccatccct ctctccatcc tgcctccact tcttccaccc ccgggagtcc 3000
 aggctccct gtccccacag tccttgagcc acaagcctcc accccagctg gtccccacc 3060
 caggtctccc agtttaacat tcctagtcat aggccttga cttctgagag gcctgattgt 3120
 25 catctgtaaa taagggttag gactaaagca ctccctctgg aggactgaga gatgggctgg 3180
 accggagcac ttgagtctgg gatatgtgac catgctacct ttgtctccct gtccctgttc 3240
 ttccccagc cccaaatcca ggtttttcca aagtgtggtt caagaaccac ctgcatctga 3300
 atctagaggt actggataca accccacgtc tgggcccgtt cccaggacat tctacatgag 3360
 aacgtggggg tggggccctg gctgcacctg aactgtcacc tggagtcaagg gtggaagggtg 3420
 30 gaagaaactgg gtcttatttc cttctcccct tgttcttttag ggtctgtcct tctgcagact 3480
 ccgttaaccc accctaacca tccctgcacac ccttggagcc ctctgggcca atgcccctgc 3540
 ccgcaaaggg cttctcaggg atctcacctc tatgggaggg catttttggc ccccaagaacc 3600
 ttacaoggtg tttatgtggg gaagcccctg ggaagcagac agtcctaggg tgaagctgag 3660
 aggcagagag aaggggagac agacagaggg tggggctttc ccccttgtct ccagtgccct 3720
 35 ttctggtgac cctcggttct tttccccac cccccccca gcggagccca tctggtgag 3780
 gcttaaggag gtccgactgc agagggacga cttcagagatt ctgaaggtga tcggacgcgg 3840
 ggcgttcagc gaggtaaacc gaaccggggc ggagcctgac ttgactcgtg gtgggggggg 3900
 cataggggtt ggggcccggc cttagaaatt gatgaatgac cgagccttag aacctagggc 3960
 tgggtctggg gcggggcttg ggaccaatgg gcgtggtgtg gcaggtgggg cggggccacg 4020
 40 gctgggtgca gaagcgggtg gagtgggtg tgggcagacc cttttgtttt ccocgcctct 4080
 ccactctgtc tcaatctctc gacctcaggt agccttagtg aagatgaagc agacggggcca 4140
 ggtgtatgcc atgaagatca tgaacaagtg ggacatgctg aagaggggag aggtgagggg 4200
 ctgggocggc gtggggggct ttgaggatcc ggcccccgtc tccggtgca gctcctcgg 4260
 gtgccctgca ggtgtcgtgc ttcctgaggg agagggacgt gttggtgaat ggggaccggc 4320
 45 ggtggatcac gcagctgcac ttcgccttcc aggatgagaa ctacctggtg agctccggggc 4380
 cggggtgact aggaagaggg acaagagccc gtgctgtcac tggacgagga ggtggggaga 4440
 ggaagctcta ggattggggg tgctgcccgg aaactgtctg gggaaaagtct gtgtgctgta 4500
 agaggggtgt tcaggtggat gaggggcctt cctatctga gacgggggat gtgtccctca 4560
 ctgcccgttt ctgggggtgat ctgggggact cttataaaga tgtctctgtt gcgggggggtc 4620
 50 tcttacctgg aatgggatag gtcttcagga attctaaccg ggccactgcc tagggaagga 4680
 gtgtctggga cctattctct ggtgtttggg tggcctctgg gttctctttc ccagaacatc 4740
 tcagggggag tgaatctgcc cagtacatc ccaggaaagt tttttgttt gtgttttttt 4800
 ttgagggggc ggggcccggg ccgcaggtgg tctctgattt ggcccggcag atctctatgg 4860
 ttatctctgg gctggggctg caggtctctg cccaaggatg ggggtgtctt gggaggggtt 4920
 55 gtcccagcca tccgtgatgg atcagggcct caggggacta ccaaccacc atgacgaacc 4980
 cctctcagca acctggtcat ggagattac gtgggcgggg acctgctgac acctgctgagc 5040
 aagtttgggg agcggattcc ggcgagatg gcgcgcttct acctggcggg gattgtcatg 5100
 gccatagact cgggtgcaccg gcttggctac gtgcacaggt ggggtgcagca tggccagagg 5160
 gatagcaagc ttgttccctg gccgggttct tggaaaggtca gagcccagag aggccagggc 5220
 60 ctggagaggg accttcttgg ttggggccca cgggggggtg cctgggagta ggggtcagaa 5280
 ctgtagaagc cctacagggg cggaaaccga ggaagtgggg tcccaggtgg cactgcccgg 5340
 aggggocggg cctggtggga ccacagaagg gaggttcatt tatcccacc ttctcttttc 5400
 ctccgtgacg ggacatcaaa cccgacaaca tccctgtgga ccgctgtggc cacatccgcc 5460
 tggccagact cggctcttgc ctcaagctgc gggcagatgg aacggtgagc cagtccctg 5520
 65 gccacagagc aactggggct gctgatgagg gatggaaggc acagagtgtg ggagcgggac 5580
 tggatttggg ggggaaaaga ggtggtgtga cccaggctta agtgtgcatc tgtgtggcgg 5640

ES 2 756 326 T3

	agtattagac	caggcagagg	gaggggctaa	gcatttgggg	agtggttgga	aggagggccc	5700
	agagctggtg	ggcccagagg	ggtgggcccc	agcctcgctc	tgctcctttt	ggtccaggtg	5760
5	cggtcgctgg	tggctgtggg	caccccagac	tacctgtccc	ccgagatcct	gcaggctgtg	5820
	ggcgggtggc	ctgggacagg	cagctacggg	cccagtggtg	actggtgggc	gctgggtgta	5880
	ttcgcctatg	aaatgttcta	tgggcagacg	cccttctaag	cggattccac	ggcggagacc	5940
	tatggcaaga	tcgtccacta	caaggtgagc	acggccgcag	ggagacctgg	cctctcccgg	6000
	tagggcctcc	caggctatcg	cctcctctcc	ctctgagcag	gagcacctct	ctctgcccct	6060
10	ggtggacgaa	gggtccctg	aggaggctcg	agacttcatt	cagcgggtgc	tgtgtcccc	6120
	ggagacacgg	ctgggcccgg	gtggagcagg	cgacttccgg	acacatccct	tcttctttgg	6180
	cctcgactgg	gatggtctcc	gggacagcgt	gcccccttt	acaccggatt	tcgaaggtgc	6240
	caccgacaca	tgcaacttcc	acttgggtgga	ggacgggctc	actgccatgg	tgagcggggg	6300
	cggggtagtg	acctgtggcc	cctgctcggc	tgccgggaacc	tccccatgct	ccctccataa	6360
15	agttggagta	aggacagtgc	ctacctctg	gggtcctgaa	tcactcattc	ccagagcac	6420
	ctgctctgtg	cccactctact	actgaggacc	cagcactgac	ctagacttac	agtccagtg	6480
	gggaacacag	agcagtcttc	agacagtaag	gccccagagt	gatcagggct	gagacaatgg	6540
	agtgcagggg	gtgggggact	cctgactcag	caaggaaggt	cctggagggc	tttctggagt	6600
20	ggggagctat	ctgagctgag	acttggaggg	atgagaagca	ggagaggact	cctcctccct	6660
	taggccgtct	ctcttcaccg	tgtaacaagc	tgtcatggca	tgcttgctcg	gctctgggtg	6720
	cccttttget	gaacaatact	ggggatccag	cacggaccag	atgagctctg	gtccctgccc	6780
	tcacccagtt	gcagtctaga	gaattagaga	attatggaga	gtgtggcagg	tgccctgaag	6840
	ggaaagcaaca	ggatacaaga	aaaaatgatg	gggcccaggca	cggtggtcta	cgccgtgaac	6900
25	cccagcaatt	tgccaggccg	aagtgggtgg	attgcttgag	cccaggagtt	cgagaccagc	6960
	ctgggcaatg	tgggtgagacc	cccgtctcta	caaaaatggt	ttaaaaattg	gttgggctgt	7020
	gtggcgcatg	cctgtatact	cagctactag	ggtggccgac	gtgggcttga	gcccaggagg	7080
	tcaaggctgc	agtgagctgt	gattgtgcc	ctgcactcca	gcctgggcaa	cggagagaga	7140
	ctctgtctca	aaaataagat	aaactgaaat	taaaaaatag	gctgggctgg	ccgggcgtgg	7200
	tggctcacgc	ctgtaatctc	agcactttgg	gaggccgagg	cgggtggatc	acgaggtcag	7260
30	gagatcgaga	ccatcttggc	taacacggtg	aaaccccatc	tctcctaaaa	atacaaaaa	7320
	ttagccagta	gtggtggcgg	gcccctgtag	tcccagctac	tcaggaggct	tgagagggag	7380
	aatggcgtga	acccgggagg	cagagtttgc	agtgaagcca	gatcgtgcca	ctgcactcca	7440
	gcctgggcca	cagagcgaga	ctctgtctca	gaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaatagg	7500
35	ctggaccgcg	gccgggcgct	gtggctcatg	cctgtaatcc	cagcactttg	ggagtccaag	7560
	gccgggtggg	catgagatca	ggagttttga	gactaggctg	gccaacacgg	tgaaccccgg	7620
	tctctactaa	aaatacaaga	aaattagctg	ggtgtggtct	cgggtgcctg	taattccagt	7680
	tactggggaa	gctgaggcag	gagaattgct	tgaacctggg	aggcagagtt	tgagtgagc	7740
	caagatcatg	ccactacact	ccagtctggg	tgacagagtg	agactctgtc	tcaaaaaaaaa	7800
40	aaaaaaaaaa	aagggttggg	caaggtggtt	cacgctgta	atcccagaac	tttgggaggc	7860
	tgaggcaggc	agatcactgg	aagtccaggg	ttcaagacca	gcctggccaa	catggtgaaa	7920
	ccctgtgtct	actaaaaata	caaaatttag	ccaggcttgg	tggcgtatgc	ctgtaatgcc	7980
	agctactcag	gaggctgagg	caggagaatc	gcttgattga	acctgggagg	cagagtttgc	8040
	agtgggctgg	ggttgtgcca	ctgcactcta	ggctgggaga	cagcaagact	ccatctaaaa	8100
45	aaaaaaaaaca	gaactgggct	gggcacagtg	gcttatattt	gtaatcccag	cactttggga	8160
	ggctgaggtt	ggaggactgc	ttgagcccag	agtttgggac	tacaacagct	gaggtaggcg	8220
	gatcacttga	ggtcagaaga	tggagaccag	cctggccagc	gtggcgaaac	ccgctctcta	8280
	ccaaaaatat	aaaaaattag	ccaggcctgg	tagagggcgc	ctgtaatctc	agctactcag	8340
	gacgctgagg	caggagaatc	gcctgaaact	gggagggcga	ggttgacagt	agctgagatt	8400
50	gcaccactgc	actccagcct	gggtaacaga	gcgagactcc	gtatcaaaga	aaaagaaaa	8460
	agaaaaaatg	ctggaggggc	cacttttagat	aagccctgag	ttggggctgg	tttgggggga	8520
	acatgtaagc	caagatcaaa	aagcagtgag	gggcccggcc	tgacgactgc	tgctcacatc	8580
	tgtgtgtctt	gcccaggaga	cactgtcgga	cattcgggaa	ggtgcgccc	taggggtcca	8640
	cctgcctttt	gtgggctact	cctactcctg	catggccctc	aggtaagcac	tgccctggac	8700
55	ggcctccagg	ggccacgagg	ctgcttgagc	ttcctgggtc	ctgctccttg	gcagccaatg	8760
	gagttcgagg	atcagtcttg	gaaccttact	gttttgggcc	caaagactcc	taagaggcca	8820
	gagttggagg	accttaaat	ttcagatcta	tgtacttcaa	aatgttagat	tgaattttaa	8880
	aacctcagag	tcacagactg	ggcttcccag	aatcttgtaa	ccattaactt	ttacgtctgt	8940
	agtacacaga	gccacaggac	ttcagaactt	ggaaaatatg	aagtttagac	ttttacaatc	9000
60	agttgtaaaa	gaatgcaaat	tctttgaatc	agccatataa	caataaggcc	atthaaaaatg	9060
	attaatttag	gcccggccgg	gtggctcacg	cctgtaatcc	tagcactttg	ggaggccaag	9120
	gcaggtggat	catgaggtca	ggagatcgag	accatcctgg	ctaacacggg	gaaaccccgt	9180
	ctctactaaa	aatacaaaaa	aattagccgg	gcatgggtgg	gggcgcttgc	ggtcccagct	9240
	acttgggagg	cgaggcagga	gaatggcatg	aaccggggag	gcggagcttg	cagtgagccg	9300
65	agatcatgcc	actgcactcc	agcctgggcg	acagagcaag	actccgtctc	aaaaaaaaaa	9360
	aaaaaaaaagt	atthatttag	gcccgggtgtg	gtggctcacg	cctgtaattc	cagtgctttg	9420

ES 2 756 326 T3

5 ggaggatgag gtgggtggat cacctgaggt caggagttcg agaccagcct gaccaacgtg 9480
 gagaaacctc atctctacta aaaaacaaaa ttagccaggc gtgggtggcat atacctgtaa 9540
 tcccagctac tcaggaggct gaggcaggag aatcagaacc caggaggggg aggttgtggt 9600
 gagctgagat cgtgccattg cattccagcc tgggcaacaa gagtgaact tcactcaaa 9660
 aaaaaaaaaa aaaaagtact aatttacagy ctgggcatgg tggctcacgc ttggaatccc 9720
 agcactttgg gaggtgaa gggacggatt gcttcagccc aggagttaa gaccagcctg 9780
 10 agcaacataa tgagaccctg tctctacaaa aaattgaaaa aatcgtgcca ggcattggtg 9840
 tctgtgctcg cagtccctagc tactcaggag tctgaagtag gagaatcact tgagcctgga 9900
 gtttgaggct tcagttagcc atgatagatt ccagcctagg caacaaagtg agacctggtc 9960
 tcaacaaaag tattaattac acaaataatg cattgcttat cacaagtaaa ttgaaaaata 10020
 cagataagga aaaggaagtt gatatctcgt gagctcacca gatggcagtg gtccctggct 10080
 cacacgtgta ctgacacatg tttaaatagt ggagaacagg tgtttttttg gtttgttttt 10140
 15 tcccccttc ctatgctact ttgtctaaga gaacagttgg ttttctagtc agcttttatt 10200
 actggacaac attacacata ctatacctta tcattaatga actccagctt gattctgaac 10260
 cgctgcgggg cctgaacggt gggtcaggat tgaaccatc ctctattaga acccaggcgc 10320
 atgtccagga tagctaggtc ctgagccgtg tccccacagg agggactgct gggttggagg 10380
 ggacagccac ttcatacccc agggaggagc tgtcccctc ccacagctga gtgggggtgtg 10440
 20 ctgacctcaa gttgccatct tggggcccc tgcccagctc taggaccaca tctgtggagg 10500
 tggccagagc caagcagctc ccccatcagg tggccctccc tgtcctgagg ccctgagaag 10560
 aggggtctgc agcggtcaca tgtcaaggga ggagatgagc tgaccctaga acatgggggt 10620
 ctggacccca agtccctgca caaggttag aaagagcagc tcccaggggc ccaaggccag 10680
 25 gagaggggca gggcttttcc taagcagagg aggggctatt ggcctacctg ggactctgtt 10740
 ctcttcgctc tgctgctccc ctctcctcaa tcaggaggctc ttggaagcag ctgcccctac 10800
 ccacaggcca gaagttctgg ttctccacca gagaatcagc attctgtctc cctcccact 10860
 ccctcctcct ctccccagg acagttaggt cccaggcccc acacctatgg aactggaggc 10920
 cgagcagctg cttgagccac acgtgcaagc gccagcctc gagccctcgg tgtccccaca 10980
 30 ggatgaaaca gtaagttggt ggaggggagg gggctcgtca gggacaattg ggagagaaaa 11040
 ggtgagggct tcccgggtgg cgtgcaactg agagccctc agggactcc tgaacagaag 11100
 cagacagaaa ccacggagag acgagttac ttcagacatg ggacggtctc tgtagttaca 11160
 gtggggcatt aagtaagggt gtgtgtgttg ctggggatct gagaagtcca tctttgagct 11220
 gagcgtggt gaaggagaaa caagccatgg aaggaaaggt gccaaagtgt caggcgagag 11280
 35 cctccagggc aaaggccttg ggcaggtggg aatcctgatt tgttcctgaa aggtagtttg 11340
 gctgaatcat tcctgagaag gctggagagg ccagcaggaa acaaaaacca gcaaggcctt 11400
 ttgtcgtgag ggcattaggg agctggaggg attttgagca gcagagggac ataggttgtg 11460
 ttagtgtttg agcaccagcc ctctggtccc tgtgtagatt tagaggacca gactcagggg 11520
 tggggctgag ggaggtaggg aagggagggg gcttgatca ttgcaggagc tatggggatt 11580
 40 ccagaaaatg tgaggggacg gaggagtagg gataaacia ggattcctag cctggaacca 11640
 gtgcccaggt cctgagctct ccaggagcca caggcagcct taagcctggt ccccatacac 11700
 aggtgaagt ggcagttcca gcgctgtcc ctgcccaga ggctgaggcc gaggtgacgc 11760
 tgcgggagct ccaggaagcc ctggaggagg aggtgctcac ccggcagagc ctgagccggg 11820
 agatggaggc catccgcacg gacaaccaga acttcgccag gtcgggatcg gggccggggc 11880
 45 cggggccggg atgcccggc gtggcaacc ttggcatccc ctctcgtccg gccccggacg 11940
 actcacgcctc cttacctccc cacagtcaac tacgcgaggc agaggctcgg aaccgggacc 12000
 tagaggcaca cgtccggcag ttgcaggagc ggatggagtt gctgcaggca gagggagcca 12060
 caggtgagtc cctcatgtgt cccctcccc gaggagcgg gaggagttg gccgtctgct 12120
 ccgcccggcg tgtatagaca cctggaggag ggaagggacc cacgctgggg cacgccgccc 12180
 50 caccgcccctc cttcgcccct ccacgcgccc tatgcctctt tcttctcctt ccagctgtca 12240
 cgggggtccc cagtccccgg gccacggatc caccttccc tgtaagacc ctctctttcc 12300
 cctgcctcag acctgctgcc cattctgcag atccccctcc tggctcctgg tctccccgtc 12360
 cagatatagg gctcacctca cgtctttgcg acttttagagg gcagaagccc tttattcagc 12420
 55 cccagatctc cctccgttca ggcctcacca gattccctcc gggatctccc tagataacct 12480
 ccccaacctc gattccctcc gctgtctctc gccccaccg tgagggctgg gctgggctcc 12540
 gatcgggtca cctgtccctt ctctctccag ctatagggcc ccccggcctg ggctgtgggg 12600
 cagtccccgc tgggtggggcc aggcccatg caccgcgcc acctgctgct ccctgccagg 12660
 gtacgtccgg ctgcccacgc cccctccgc cgtcgcgcc cgcgctccac ccgccccttg 12720
 ccaccgctt agctgcgcat ttgcccggct gggcccacgg caggagggcg gatcttcggg 12780
 60 cagccaatca acacaggccg ctaggaagca gccaatgacg agttcggacg ggattcagagg 12840
 cgtgcgagtg gactaacaac agctgtaggc tgttggggcg ggggcccggc gcaggggaaga 12900
 gtgcgggccc acctatgggg gtaggcgggg cgagctccc gagccaatca gaggcccatt 12960
 ccgggtgctt acctgcctcc ctcccgcag ctcccaggg ctaggctatc ctggcctatc ggagggcctt 13020
 tccctgtctc tgttcgcccgt tgtctgtct ctgcccgcg cctgggctg cattgggttg 13080
 65 gtggcccacg ccggccaact caccgcagtc tggcgcgcc caggagccgc ccgcccctcc 13140
 tgaacctag aactgtcttc gactccgggg ccccgcttga agactgagtg cccggggcac 13200

ES 2 756 326 T3

5 ggcacagaag ccgcgcccac cgctgcccag ttcacaaccg ctccgagcgt gggctctccgc 13260
 ccagctccag tcctgtgatc cgggcccgcc ccctagcggc cggggagggg ggggcccggg 13320
 ccgcggccgg cgaacggggc tcgaagggtc cttgtagccg ggaatgctgc tgctgctgct 13380
 gctgctgctg ctgctgctgc tgctgctgct gctgctgctg ctgctggggg gatcacagac 13440
 10 catttctttc tttcggccag gctgaggccc tgacgtggat gggcaactg caggcctggg 13500
 aaggcagcaa gccgggcccgt ccgtgttcca tcctccacgc acccccacct atcgttggtt 13560
 cgcaaagtgc aaagctttct tgtgcatgac gccctgctct ggggagcgtc tggcgcgatc 13620
 tctgcctgct tactcgggaa atttgctttt gccaaacccg ctttttcggg gatcccgcgc 13680
 cccctcctc acttgcgctg ctctcggagc cccagccggc tccgcccgct tcggcgggtt 13740
 15 ggatatttat tgacctgctc ctccgactcg ctgacaggct acaggacccc caacaacccc 13800
 aatccacgtt ttggatgcac tgagaccccg acattcctcg gtatttattg tctgtcccca 13860
 cctaggaccc ccacccccga ccctcgcgaa taaaaggccc tccatctgca caaagctctg 13920
 gactccacag tgtccgcggt ttgcgttgtg ggccggaggc tccgcagcgg gccaatccgg 13980
 20 aggcgtgtgg aggcggccga aggtctggga ggagctagcg ggatgcgaag cggccgaatc 14040
 agggttgggg gaggaaaagc cacggggcgg ggctttggcg tccggccaat aggagggcga 14100
 gcgggccacc cggaggcacc gccccgcgcc agctgtggcc cagctgtgcc accgagcgtc 14160
 gagaagaggg ggctgggctg gcagcgcgcg cggccatcct ccttccactg cgcctgcgca 14220
 cgccacgcgc atccgctcct gggacgcaag ctcgagaaaa gttgctgcaa actttctagc 14280
 25 ccgttccccg cccctcctcc cggccagacc cgccccccct gcggagccgg gaattccgag 14340
 gggcggagcg caggccgaga tggggaatgt gggggcctgc agaggacct ggagacggag 14400
 gcgtgcagaa g 14411

30 <210>3
 <211>15000
 <212>ADN
 <213>Mus musculus

35 <400>3

40

45

50

55

60

65

ES 2 756 326 T3

5 cagtgtcccc actgcccgaag gctggctcca tcacgtaccg ctttggctca gctggccagg 60
 acacacagtt ctgcctgtgg gacctcacag aagatgtgct ctcccctcat ccgtctctgg 120
 cccgtaccog cacccttccg ggcacacctg gtgccacccc accagcttct ggtagttctc 180
 gggccggaga gacaggtgca ggccccctgc cccgctccct gtctcgttcc aacagtctcc 240
 cacaccagc tgggtggggc aaggctggtg ggcctagtgc atcgatggag cctggcatac 300
 cattcagcat tggccgcttt gccacactga ccctgcagga gcggcgggac cggggagctg 360
 10 agaaggaaca caaacgctac catagcctgg gaaacatcag ccgcggtggc agtgggggca 420
 atagcagcaa tgacaagctc agtggtcctg cccccgaag ccgattggac ccagctaagg 480
 tgctggggac ggcactgtgc cctcggatcc atgaggtgcc actgctggag cctctcgtgt 540
 gcaagaagat tgctcaggaa cgctgaccg tgctactggt cctggaggat tgtatcatca 600
 ctgcctgcc aagaggcctc atctgcacct gggccccgcc aggcaaggcg gtgagtccgc 660
 15 acctgccccaa gcgctgaggg gcaccagttc tgtccctacc ggatgccagt tatccgtcag 720
 cagaaaggtc aggtatagga gacagaatgg ggggaaccac agctaacgct tttagagcct 780
 ctgctggccc atatggctca tccttagtac ttcacactca aggcagaacc tgtgtttata 840
 ggaaatctga agtgtagatg gtgaaacttt attcaggtct agggatgtga ttgagctggg 900
 ggcccacttc tggcctgcct cttagacact gtttctgagc cagctgctga aggcctggat 960
 20 ggggaattagc caggggtccag gcctgcactt cctcttgctg ctgtgtggtc ctggtcattg 1020
 ggtctcacag atgggctgtg cagtggctgt gctcttagtt ggtgaggtgc aggcctgtca 1080
 cctggtcagg cttgagcatg tggctcagat gtctaggacc ctactctgcc ctcagtcctt 1140
 cagtcccttg ctttgggaagg ctagagtcca gaagccttag aacgtcaggc agttgcagag 1200
 25 ccaactgccag gctagtaggg ctgcgggagt tgactgagtt ctcacagaca cccctctgtc 1260
 tccttagttc acagacgagg agaccgaggc ccaggcaggg caagcaagtt ggcccaggtc 1320
 acccagcaag tcagttgtag aggtaggaca acccctgaag ctgcaagtgg accccagttt 1380
 cttttctctc cactgtcgtc ccctgtatgc ccaggacacc tggggccaca ttactgtgga 1440
 agtgctactc tgggtcagtg gagacggccg agctgtttgt tcctagctag gacagcagct 1500
 30 ttaggcctgg ggggcagatc ccagctgggg cagcagctcc aaggcctttg ggtggctcct 1560
 tctccggggt ctggcagaag cccaggtgct gtctaatacca cctttctcct cttgttctcc 1620
 ccagggcatc tcctcccaac caggcagctc cccagtggtc actgtggtgt gaaatgtgga 1680
 tgtcccatgt tcccggcctc ctagccataa ccctccccgc tgacctcaag aatcactgta 1740
 ttaacaagac taatcatgat ggaaggactg ctccaagccc cacgctgcac acatactggg 1800
 35 ggtccctag gttggcccag ccatggggat gtagtgtcct gtgtggcctt ggcctgtcc 1860
 tccaccact gccaaagtaca atgacctgtt ctctgaaaca tcagtgttaa ccataccct 1920
 gtccagcat gtgactgttc actcctggga gagacttagc ccacagtacc cctgggtgag 1980
 agggcagggc agggggccatc cccactcctg cccaaactcc accccttgt atggtctgtg 2040
 40 attttgaaag tgttaaatta tgggaagccct gagggccctc cttgttcccc tggacctctt 2100

	atttatacta	aagtccttgt	ttgcacagtg	tttctgttcc	ctggggcagg	gtaggggtggg	2160
	ggttgcagta	cttggcctcc	aagctgtgct	ctgaccaaag	gaagcccaat	cttagctgtt	2220
5	tccccatccc	tagccccgag	cagagagccc	tctgaaagat	gagtctcgac	ccccaaagtc	2280
	aagaggctga	gatggccttc	ctactaggtc	cttggagatg	tttгааactt	gttttaaaca	2340
	ccaggactat	ccaagcatgc	tctccttggg	gagaggagga	tgctggaatt	gactgcactc	2400
	cctgcctcct	ctgaacatgc	ctttgcagtc	tgctgccctc	ggcccattta	tgactggcca	2460
	tctagtgcca	gctggaggtc	atgatttcct	ccccagagaa	ctggccaccc	tagaaagaag	2520
10	ctaacttgtc	gcctggcttg	ctgtccaggc	agctccgccc	tcaaccccta	aaatgtttct	2580
	gtctctaate	ctagcccagg	caggaatgtg	gctgccccgg	cctgtggcca	aggagctatt	2640
	ttggggttct	cttttgctta	aggagggcct	ggatccacca	cttgccctccc	ccaggctggg	2700
	gccagcaggt	cacccctggc	cctggcggtc	gagcaaactc	tctcctgatc	ttccttctac	2760
	ctcctgccaa	aaaaatgggg	ggcgggtaat	acagcaggca	caggggctaa	atthaactgt	2820
15	cccaaagctg	gaatccattg	ctgagtcacg	aagaagctgc	ccttggcctt	tgccccccc	2880
	actaccccct	caccccctgt	tgcccaggca	tcagcccttt	cccccaacce	ctcccagctc	2940
	tgagtctata	gactggctct	cctgggcact	gacacctccc	acctgtaact	ccctgtgctc	3000
	tctttatggg	tgggtagagt	caatgggggg	gggcaaccct	ggagtattac	tctgtcccct	3060
20	gacattgggc	tctgaagagt	tttgaggggc	cctggaagaa	gggagttggg	gtgttggctc	3120
	aggaggggtt	aaaaactggg	aggcgggagg	gggctgggyc	caaggggtgg	agaaaagagg	3180
	aggaggcctt	aagcatagaa	ctggccagag	agacccaagg	gatagtcagg	gacgggcaga	3240
	catgcagcta	gggttctggg	gcctggacag	gggcagccag	gccctgtgac	gggaagaccc	3300
	cgagctccgg	cccggggagg	ggccatggtg	ttgcctgccc	aacatgtcag	ccgaagtcg	3360
25	gctgaggcag	ctccagcagc	tggtgctgga	cccaggcttc	ctgggactgg	agcccctgct	3420
	cgaccttctc	ctgggcgtcc	accaggagct	gggtgcctct	cacctagccc	aggacaagta	3480
	tgtggccgac	ttcttgcagt	ggggtgagta	tggataggaa	gcctgggggt	gggtgcaagg	3540
	cagaggtggg	tctacagggc	aagaatgggc	tatggagggg	caggagggcc	tggaaagggc	3600
	tttttgtaag	ggagccaagc	agagctcatg	acctgacccc	aagctcccct	ggtgaggcac	3660
30	cagggtcagt	gaggccacct	atgactcagc	cagtgcaggc	tgggggtggc	atagcctcct	3720
	gctatctcag	cacccacact	aggacctggc	agctttctct	tttaggacc	ttggctcctc	3780
	aaactggctt	catagccctc	cccagtttcc	cacagtgagg	ggagggacag	cgtggggcag	3840
	ctgccagggt	gtggcccata	ggcaggtggt	tggcgtctgc	ctccccagct	gccctgacag	3900
	gtgtccagga	gctatgaggg	cactgtgact	cacagaggcc	ctgggggaga	accagcccgg	3960
35	cagacagggc	ccaccgagca	ccctttctgt	tccccaaatt	aagaggaagg	aacaacttca	4020
	gcttctgagt	gtgcccaccc	ctagcactct	gatcccgcct	agcctttgtg	ggccagattg	4080
	gtcatccctc	ctggcttctc	atctgctttt	gtggttctag	ctcaagacct	ctaattcctc	4140
	tgctgactta	aatgcccttc	cccagaggtc	ttctcaggcc	tagtggacaa	gcttggagcc	4200
	ttatctgctc	ctgcccacac	ttgagccaaa	gctccagctt	accccagctt	ccttacaagt	4260
40	aacgacgggt	ttgttgctc	tgtgcctatt	attaagggtc	caggtcttga	ttcttggctg	4320
	tctgcccatt	tgtgtgaccc	tagtgcattc	tcccctcctc	ccccgtttca	cagatggaaa	4380
	ggttgaggcc	atcggttaga	ctgctaagcc	tgtgaaagac	tttttctcct	ctccagctct	4440
	tagtgtctcc	ctcaaccttt	cttttgaagg	atggggtttg	ggctggcagg	gtaaactgag	4500
45	aactgggggt	ggggcagggg	gtctgacctt	ctgggaagga	gcagtccttt	tgtggcctga	4560
	gcagcatcct	gtgggcccct	cccctgccag	gcctgggcyg	gggagggggc	ctgggttccc	4620
	gctgccttaa	aagggtcaa	cgccttggct	ctctcctcct	ccccaccccc	cagccttggc	4680
	cctagctgta	tcttccccgg	ctgcccactt	tcccaaacc	ctttcttctc	tgtgacccca	4740
	tctccccgct	tccccacag	tccctcctcc	atccttactc	cccggcctta	gaacttcctc	4800
50	aagggtgagc	tgacctccct	ctgcccaccc	cgcaccccca	gtcgccagcc	tcagacctag	4860
	ctgctctccc	ctctggctga	accacccctag	cacaggacct	tataccctgg	agctttgggt	4920
	ataagaagac	tctccttcac	cctttggaaa	ccaagaaagc	ccttccaaca	gtgtccagga	4980
	tgctggaggg	cagtgacctt	ccccacttcc	ttcttctgtc	tggctgtgct	gacacagctc	5040
	cagttcgagg	ttgtggcccc	agacattaag	tgagagcccc	gggtgacctg	acttagcacc	5100
	ctgatcatca	catgggagtg	aaaggcctga	tgcgccagct	tctcccactg	cctccctttc	5160
55	tgccctgcaa	ccctgtggaa	acaggcagtt	ctgggtccca	caaacatcac	agaggttttg	5220
	aaagcagaat	cctaagcccg	atthaagggg	cagaaggaag	gaggtataaa	agtcactacc	5280
	cttaccgcta	gtgttctgat	gaccttgggt	tcttcttccc	ccacccccgc	ccagtgagac	5340
	ccattgcagc	aaggcttaag	gaggtccgac	tgagagggga	tgattttgag	atthtgaagg	5400
	tgatcgggcg	tggggcgctc	agcgaggtga	gtcttcagtg	gcctgggaat	ggaactttac	5460
60	ttgatgtggg	tggggcataa	cagctggggc	agagccttaa	aaattgatga	atgagcttga	5520
	atthaaggct	ggaggggtgg	gggcggagct	tgtggtcagt	gggcgggtg	cacgtgaggg	5580
	cggggctaag	gttgggtgga	gataaggggt	gagtcctgtc	tgggtgagcc	ttgtgtggtt	5640
	tccctgccac	ctcttgctgt	catctcgggt	ccgtatthag	gtagcgggtg	tgaagatgaa	5700
	acagacgggc	caagtgtatg	ccatgaagat	tatgaataag	tgggacatgc	tgaaagagag	5760
65	cgaggtgagg	gccagggatt	agggcagcgc	cctcatctct	ccaactcacc	tcctgtagct	5820
	tctctcctac	ctcacaggtg	tctgtcttcc	gggaagaaag	ggatgtatta	gtgaaagggg	5880

ES 2 756 326 T3

	accggcgctg	gatcacacag	ctgcactttg	ccttccagga	tgagaactac	ctggtaaact	5940
	ccgggttcag	gtgactagga	aagagtgaca	gttacatcgc	cccaagtcaa	gaaggctgga	6000
5	gaagggagaa	gctgctgtag	atcggggggg	tgggggtggg	ggggacacac	acaggggatg	6060
	ggggacgggg	gtaggattgt	gtctcaagta	taggagagac	cttccttgag	acaggagtga	6120
	tatctggttt	ggcctttgga	tggggcgctc	tctcactgtg	cgggggctct	ctgtgcttgg	6180
	gaacgggggtg	tctttgggag	tcttgggggc	taccaaacc	ctgtgacaca	cccgtccca	6240
	gtacctggtc	atggaatact	acgtgggocg	ggacctgcta	acgctgctga	gcaagtttgg	6300
10	ggagcggatc	cccgcgaga	tggctcgctt	ctacctggcc	gagattgtca	tggccataga	6360
	ctccgtgcac	cggctgggct	acgtgcacag	gtgggcgtgg	cggggccctt	ggagggttag	6420
	cagaatttgt	gtgggaagga	agggtacctg	aaggtcagat	cccattgggg	acagaatcgg	6480
	ggtctagaat	tgtagaatcc	tgggtggggt	ggaagtggat	cgagctgacg	ggccctaaga	6540
	gggaaggttt	tcaagaaagc	acactttccc	tcttctctct	atgcacaggg	acatcaaacc	6600
15	agataacatt	ctgctggacc	gatgtgggca	acctgcctcg	gcagacttcg	ctgctgcct	6660
	caaaactgcag	cctgatggaa	tggtaagaag	agcttggcga	aactctcctc	attggtgaag	6720
	gaccggatta	gggggcgggg	ctgggttgag	gagcaggagg	ggagcttgg	ctgggatgtc	6780
	ctgcgcacca	tatttggaca	gtcaagggaa	aggttttaag	cattcaggtc	tgattggcac	6840
20	aggtgaggtc	gctggtggct	gtgggcaccc	cggactacct	gtctcctgag	atctctcagg	6900
	ccgttgggtg	agggcctggg	gcaggcagct	acgggccaga	gtgtgactgg	tgggcactgg	6960
	gcgtgttcgc	ctatgagatg	ttctatgggc	agacccctt	ctacgcggac	tccacagccg	7020
	agacatattc	caagattgtg	cactacaggg	tgagcacaag	caccatgcag	gggggctgac	7080
	ttagtggctt	gtgctcccag	actgtctttt	ttaaaagata	tttatttata	tgtgtgtgtt	7140
25	ttctgtgtat	gtatatctgt	gcactgagta	ggtgtgcgaa	ggtcagaggg	catgggatcc	7200
	cctggaactg	gagtcacaga	ctattgtgtg	ctgccatgct	gagtgtctgg	aaacagaacc	7260
	ttgatcactc	tgcaagagca	gccagtgcac	tgaaacgaca	gagccagctc	tgcagccag	7320
	ggctaactgt	tgcttttctt	tctaaatagg	aacacttgtc	gctgccgctg	gcagacacag	7380
	ttgtccccga	ggaagctcag	gacctcattc	gtgggctgct	gtgtcctgct	gagataaggc	7440
30	taggtcgagg	tggggcaggt	gatttccaga	aacatccttt	cttctttggc	cttgattggg	7500
	aggtctccg	agacagtgtg	cccccttta	caccagactt	cgagggtgcc	acggacacat	7560
	gcaatttcga	tgtggtggag	gaccggctca	ctgccatggt	gagcgggggc	gggtacgta	7620
	cctgcagttc	ctgatccggt	gagggactt	ccctagcctc	ttccataaaa	ttgggggtgat	7680
	tggccaggtg	tgggtgtgca	tacctttaat	cgtagaactt	cataggcaga	ggcaggtggc	7740
35	tctctggtaa	atcaaggcca	tcttggctta	catagtgact	tctaggccag	tcaggagtga	7800
	gatcctccct	tgaaaaaata	aaaagggggt	ggtgaccttc	ctgggtccca	aattattatc	7860
	ctagagcact	gctatgtatc	cactcaggtg	tgaggacaca	caggtgacca	gtcccaaaga	7920
	cagtgagtga	ggcctcactc	ttggcagtac	taaaattgat	tgtagggggc	tgggctcttg	7980
	accagcctg	gaaagtgtct	gagggcttcc	tggaggagga	gactagtcta	gcccagaagg	8040
40	atgcaggaga	tcctttctcg	ggtgagtgtc	ctcagcattt	taacaagctc	taggccctgc	8100
	agagagaagt	ctggtgtggg	cagagcccca	atagaaagca	acaagataga	agagaaaatg	8160
	gtggagtttg	ttagtggggg	cagttatgcc	gtgaacatag	agggggcgaag	ggccatctcg	8220
	gataactgct	agccacaaga	gccctgtctg	tcttcttagg	agacgctgtc	agacatgcag	8280
	gaagacatgc	cccttggggg	gcgccctgcc	ttcgtgggct	actcctactg	ctgcatggcc	8340
45	ttcaggtgag	cacgactgcc	ccctgctggg	gcctgtgtgc	aggcccacca	cagccactca	8400
	attgaaggct	cagtcttcaa	accaagtatt	cctaggagct	gtctaagtta	ggctttctgc	8460
	tgtctcgatg	aacctgact	aaaagcaagc	tggggaggaa	aaggcttatc	gggcttacgt	8520
	ttccacatgg	gagcccatca	ctgaaggaa	ccaggacagg	aactcacagg	ggggcaggaa	8580
	cgtggagctg	atgcagaggc	aatggagggg	agctgcttac	tgacttgatc	cttatgtctt	8640
50	cctcagcctg	tttccctgtg	gagcccagga	ccaccaggcc	agtgagggct	ccactcacia	8700
	tgggctgagc	tctcatctat	gatcactagt	tatgaaaatg	cccgataggc	ttgcctgcag	8760
	cttcagtttt	tgaggcactt	tccttccctc	cttccctcct	tccttccctc	cttccctcct	8820
	ttctttcttt	ctttctttct	ttctttcttt	ctttctttct	ttctttcttt	ctttctttct	8880
	tagtctttta	gagacagggg	ctttctatgt	agctctggct	gtcttggaat	tcattctgta	8940
55	gaccaggtct	gtcttattta	tttattttat	gtatgtgagt	ccactatcac	tgtcctcaga	9000
	cacaccagaa	gagggcatca	gatcccatta	cagatggctg	tgagccacca	tgtggtgtct	9060
	gggaattgaa	ctcaggacct	ctggaagagc	agccagtgtc	cctgccctgt	agaggcattt	9120
	tcttcatgaa	ggctgtctcc	tctctgatga	cttgatgact	ctagcttgtt	gtgtcaagtg	9180
	gacataagac	taggaaagca	gctacacatg	cactttgttt	atthttgttt	tgttttttga	9240
60	gactgggtct	ctccatctca	tagctctggc	catcctgect	ggtgacattc	cagttccagtt	9300
	gtataaccta	agaatctgag	actcagcctt	gcagaatcct	gctattaacg	ggtctaggac	9360
	actccataga	atccaggatc	ttagaaaaac	aaacctgaag	tgtgacagtt	tatttttaaga	9420
	acacaattgg	agcacataac	aataatacaa	cttttcagtt	ttaaaaagtt	ttctgtcttg	9480
	ttttttgagg	caggagctcc	ttaatatagt	ctaagccgcc	ctgcgagtgc	tgtgattgat	9540
65	gggcatgtac	caccatgcct	agtcaataaa	gcctttaaaa	agcatccggt	atgctggctg	9600
	tgggtgccaca	aacctgtaat	cccagcactt	agaaggtaga	ggcaagatta	tcagaaattc	9660

ES 2 756 326 T3

aaggccatcc tgggctatac agtaatctaa ggctagcctg gtctacaaga gactctgtct 9720
 aaagaaacaa aagataaata gcacccacta ttgctaggca atataaccct ataaccocac 9780
 5 cattgaggag gctgaggctg gagcatcact gcaaatttga ggccaggatg gtcaacaaat 9840
 aagtcccaga gctggcatag aggaactctg tctcaacaat aaagagaact tatctagcat 9900
 ttatgagggg aaataaaaaat ttaccattgc cacaaaaaat gtaaatgaag agactgcttt 9960
 taggagtgaa ctgggaagca gggaacactt agaggatgct cactcacaca ggtatccacc 10020
 atcaggcatg cctcaggcct gcacagggaa ggacaacttg tttcatgatt tgcaagcagc 10080
 10 atcccatgct ccttagagcg ggttgggccc agcccaccct ctgtggagt atcgctcagc 10140
 caggcagcaa ggcagccaag gtgctgaggc cctggcagtc tgctctcttc tctgctctga 10200
 acctccttta gctttagcct aggagcctgg cctgggtgcc acaggctagg gagtccctag 10260
 cctcttctct tctcagaga caatcaggct cgggacccca cccctatgga actagaggcc 10320
 ctgcagttgc ctgtgtcaga cttgcaaggg ctgacttgc agccccag gtccccaccg 10380
 15 gatcaagtga tgagttagct gagaggtggg caaagcttcc tgggtgggtg tgggtgggtg 10440
 gccaaactgcc aggctgttaa ttcagttaga cactgtcccc aactggccca actgcacatc 10500
 ctgtagtcag gaggcacagg cagaaaaatc ccaaattcaa ggcttgctcc cgttatgtaa 10560
 tgagatcctg tcttgagta aaaaacaaag aagagaacta gggatagctc agaggtagat 10620
 20 gctctcctgg catgggggtg ggtcagaaa gcaacaccaa ccggggcctg ggagggaggg 10680
 actgccaaacc acctggagga gtctggggta gacttgggtg acaaagtcca gaggccatca 10740
 ggtgggatgc tggtttctta aaagccacag ataggtgggt agcattggaag agaggagtgg 10800
 ggggttgacg aaagtgacaa gacacaaact ggggaggcct aagggtaaag ccagggttgt 10860
 ctgaagcact gtggagctgg gaggaacacg ctaaaacttct gacttcagcc cttcagttcc 10920
 25 cctgttgact acactgtccc cagggaccca gggatgggga gaggtggagc gggggaggaa 10980
 gtacgggact gatccagctc caggtcccaa ctctgatccc caccgacagg ctgaagaggc 11040
 tgacctagtg gctgtccctg cccctgtggc tgaggcagag accacggtaa cgctgcagca 11100
 gctccaggaa gccctggaag aagagttct caccggcag agcctgagcc gcgagctgga 11160
 ggccatccgg accgccaacc agaacttctc caggtcaggg tcacagtgct ggggtgaggg 11220
 gagaggagag cagcaaccct cgcagtctcc tcaccgatag gtccgctcac tcccctatct 11280
 30 tcccagcca actacaggag gccgaggtcc gaaaccgaga cctggaggcg catgttcggc 11340
 agctacagga acggatggag atgctgcagg cccagggagc cgcaggcgag tcctcaccct 11400
 gcttccagcc aagggggcac tgggtggaga tggggggcat gttgggtgtg tgaaccctcg 11460
 gggcagggga ggagtccagg ctggggcacc gcagccgcgc cactgccttt ctccctccatc 11520
 35 ctccacactc catacacctc tctcttctcc tccagccat cacgggggtc cccagtcocc 11580
 gggccacgga tccaccttcc catgtaagac cctctctccc cctcccgat ccccatctta 11640
 gatatgctac ccacagccct tctcccgtcc acgtttaggg tccattctcc ttgggggttc 11700
 cagaagaaag ctgcccttca ctcatccatt cagcatgcac tatctaccag ctctccctcg 11760
 tttcaggctt ctgcctcaat cctcccgaag ggaactccct atactccgt tctggcctcg 11820
 40 actagattcc cgcactgcct ctgcctctgc tgetgggtc cgatcgggtc acctgtccct 11880
 tctctctcca gctagatggc cccccggccg tggctgtggg ccagtgcccg ctgggtggggc 11940
 caggcccat gcaccgccgt cacctgctgc tccctgccag ggtatgtccc acgtccgccc 12000
 accacgggccc tctgcctagc tctgccact gagtgtcacc actgcttgc gtgcctctgt 12060
 ggagctcggc ccaccgcagg gaggggggtt attcgggccc ccaatcaaca caggctgctg 12120
 45 ctaagttagc aatgacgagt tccaacagga gctctttctt gcgagcagac caactttagc 12180
 tgccggctgt ggggaccaga gatgcgctca gaggcccatc tatgggtata ggctgggccc 12240
 ctcccaggag ccagtggccc cctgtagcct agtgctaate caacctctc tctgtcagat 12300
 ccctaggcct ggcctatccg aggcgcttg cctgctctg ttgcgcgtc ctctgtctgc 12360
 tgccgccaca ctgggtgca ctgggttggg ggcctatacc ggcggtctca cccagctctg 12420
 50 gtgtttcccg ggagccacct tcgccccctg aaccctaaga ctccaagcca tctttcattt 12480
 aggcctccta ggaaggtcga gcgaccaggg agcgacccaa agcgtctctg tgcccatcgc 12540
 gccccccccc cccccccacc gctccgctcc acacttctgt gagcctgggt ccccaaccag 12600
 ctccgctcct gtgatccagg cctgccacct ggcggccggg gagggaggaa cagggtcctg 12660
 gccagcacc cctggttctc gcagagctgg tagccaccgc tgctgcagca gctgggcat 12720
 55 cggcagactt gctttactca gccccgact ggatgggcaa actgctcagc tcatccgatt 12780
 tcacttttcc actctcccag ccactcagtta caagccataa gcatgagccc cctatttcca 12840
 gggacatccc attcccatag tgatggatca gcaagacctc tgccagcaca cacggagtct 12900
 ttggcttcgg acagcctcac tctgggggt tgctgcaact ccttccccgt gtacacgtct 12960
 gcactctaac aacggagcca cagctgcact cccccctccc ccaaagcagt gtgggtattt 13020
 60 attgatcttg ttatctgact cactgacaga ctccgggacc cacgttttag atgcattgag 13080
 actcgacatt cctcggatt tattgtctgt ccccacctac gacctccact cccgaccctt 13140
 gcgaataaaa tacttctggt ctgccctaaa tcccgcccaa tatctctggt gtggaaagga 13200
 aaccggcccg caggccaatg gagagtccaa tagagacaac caatggctg agtgggagct 13260
 agagggggag caaagcgcac gaatcaggtt gaagggtggg gcttaggctg ccagccagta 13320
 65 ggagagaagc aacaagccac cagagacacc accgcccccc accctcccc ccagctgtga 13380
 cccagctgtg ccactcaagt ttggaaaaaa gtagggggtt gggccagcag cgggcacacc 13440

ES 2 756 326 T3

5 atcttcccac tgcgcctgcg caagccacgc gcatccgctt tttggaccga cactccagaa 13500
aagttgctgc aaactttcta gcgcgattcc ccgcccctcc tcccagctag atccaccgcc 13560
taccgcgggg gccgggaatt ccgagggggcg gagcacggcg cggagatggg aagggagggg 13620
gcccttcaag ggacccggga gatgggagcg gcttcgcgcc cttaacctc cggacggccc 13680
attaccttct ccgttgctct gatagggaaa ctgagggcct gagtcagagg cacacaaggg 13740
gggaaggcca aaagcgcggc cagagacgga gggaaaacaa agaatcctga cagcccggga 13800
10 ggggggcgga cacacaggga caaggacaga cccgagtgca gagctgggtc tagtctttgg 13860
gagggggcca gaagactgca aggggaccgg gggggggggc ggcgaggagg actgggcgga 13920
ggagggggct ggggaagccc gcgggagggc gcaaaggagg gaggaacttt ccaaagttgc 13980
caaacatggc tacctcgct gcggagccga gcgcggggcc cgcggctcgg ggggagggcg 14040
cggcggcgac cgaggagcag gaggaggaag cgcgccagct tctgcagact ctgcaggcag 14100
15 ccgaggggga ggcggcggcg gccggggcg gagatgcggc ggcggcggcg gactctgggt 14160
ccccgagtgg cccgggtct ccccgggaga ccgtgaccga ggtgccact ggccttcgct 14220
tctcggcccga acaggtggca tgcgtgtgcg aggcgctgct gcaggcgggc cacgccggcc 14280
gcttgagccg ctctctgggc gcgctgcccc cggccgagcg cctacgtggc agcgatccgg 14340
tgctgcgcgc gcgggcccta gtggccttcc agcgggtga atacgccgag ctctaccaac 14400
20 ttctcgagag ccgccctttc cccgccgcc accacgcctt cctgcaggac ctctacctgc 14460
gcgcgcgcta ccacgaggcc gagcggggccc gtggccgtgc gctgggcgct gtggacaaat 14520
accggctgcg caagaagttc cctctgcca agaccatctg ggatggcgag gagaccgtct 14580
attgcttcaa ggagcgctcg cgagcggcgc tcaaggcctg ctaccgccc aaccgctatc 14640
25 ccacgcctga cgagaagcgc cgcctggcca cgctcaccgg cctctcgctt acacaggtca 14700
gcaactggtt caagaaccgg cgacagcgcg accgcaactg gaccggcggg ggagcgcctt 14760
gcaaaaggtg aggggggaac cgaccctcct tcctcggtg ccgctggagt ctgcgcaagt 14820
gacccttcac atccctcttc ggtggcgtcg gcgagtgcag aggctgagcg tggagagacc 14880
30 aggcacaccc tgggttctct gggcatcact gcctcagggg cagaggttgt tccagctact 14940
tctaagctgg gaacgcagtg ccaggaatgg gggggggggc gggggcggga cgggcagtga 15000

35 <210>4
<211>1896
<212>ADN
<213>Mus musculus
<400>4

40

45

50

55

60

65

ES 2 756 326 T3

5 atgtcagccg aagtgcggct gaggcagctc cagcagctgg tgctggaccc aggcttcctg 60
 ggactggagc ccctgctcga ccttctcctg ggcgctccacc aggagctggg tgcctctcac 120
 ctagcccagg acaagtatgt ggccgacttc ttgcagtggg tggagcccat tgcagcaagg 180
 cttaaaggagg tccgactgca gagggatgat tttgagattt tgaaggatgat cgggcgtggg 240
 gcgttcagcg aggtagcggg ggtgaagatg aacagacgg gccaaagtga tgccatgaag 300
 attatgaata agtgggacat gctgaagaga ggcgaggtgt cgtgcttccg ggaagaaagg 360
 10 gatgtattag tgaaagggga ccggcgtggt atcacacagc tgcactttgc cttccaggat 420
 gagaactacc tgtacctggt catggaatac tacgtgggcg gggacctgct aacgctgctg 480
 agcaagtttg gggagcggat ccccgccgag atggctcgct tctacctggc cgagattgtc 540
 atggccatag actccgtgca ccggctgggc tacgtgcaca gggacatcaa accagataac 600
 attctgctgg accgatgtgg gcacattcgc ctggcagact tccgctcctg cctcaaactg 660
 15 cagcctgatg gaatggtgag gtcgctgggt gctgtgggca ccccgacta cctgtctcct 720
 gagattctgc aggccgttgg tggagggcct ggggcaggca gctacgggcc agagtgtgac 780
 tgggtggcac tgggcgtgtt cgcctatgag atggtctatg ggcagacccc cttctacgcg 840
 gactccacag ccgagacata tgccaagatt gtgcactaca gggaaactt gtcgctgccg 900
 ctggcagaca cagttgtccc cgaggaagct caggacctca ttcgtgggct gctgtgtcct 960
 20 gctgagataa ggctaggtcg aggtggggca ggtgatttcc agaaacatcc tttcttcttt 1020
 ggcccttgatt gggaggtct ccgagacagt gtacccccct ttacaccaga cttcgagggg 1080
 gccacggaca catgcaattt cgatgtggtg gaggaccggc tctactgcat ggtgagcggg 1140
 ggcgggggaga cgctgtcaga catgcaggaa gacatgcccc ttgggggtgca cctgcccttc 1200
 25 gtgggctact cctactgctg catggccttc agagacaatc aggtcccgga ccccaccctc 1260
 atggaactag aggccctgca gttgcctgtg tcagacttgc aagggcttga cttgcagccc 1320
 ccagtgtccc caccggatca agtggctgaa gaggccgacc tagtggctgt ccctgccctc 1380
 gtggctgagg cagagaccac ggtaacgctg cagcagctcc aggaagccct ggaagaagag 1440
 gttctcaccg ggcagagcct gagccgagag ctggaggcca tccggaccgc caaccagaac 1500
 30 ttctccagcc aactacagga ggccgaggtc cgaaaccgag acctggaggc gcatgttcgg 1560
 cagctacagg aacggatgga gatgctgcag gccccaggag ccgagccat cacgggggtc 1620
 cccagtcccc gggccacgga tccaccttcc catctagatg gcccccggc cgtggctgtg 1680
 ggccagtgcc cgctggtggg gccaggcccc atgcaccgcc gtcacctgct gctccctgcc 1740

35
 40
 45
 50
 55
 60
 65

<210>5
 <211>771
 <212>ADN
 <213>Mus musculus
 <220>
 <221>misc_feature
 <222>89, 238, 506
 <223>n = A, T, Co G
 <400>5

ES 2 756 326 T3

5 cctgccctg tggctgaggc agagaccacg gtaacgctgc agcagctcca ggaagccctg 60
 gaagaagagg ttctcaccgg gcagagctng agccgcgagc tggaggccat cgggaccgcc 120
 aaccagaact tctccagcca actacaggag gccgaggtcc gaaaccgaga cctggaggcg 180
 catgttcggc agctacagga acggatggag atgctgcagg ccccaggagc cgccggantc 240
 cctcacctgc ttccagccaa gggggcactg ggtggagatg gggggcatgt tgggtgtgtg 300
 10 aaccctcggg gcaggggagg agtccaggct ggggcaccgc gccgcgccac tgcctttctc 360
 ctccatcctc cacactccat acacctctct cttctccttc cagccatcac ggggggtcca 420
 gtccccgggc cacggatcca ctttccatc tagatggccc cccggcgggtg gctgtggggc 480
 agtggccgct ggtggggcca ggacantgtc accgcccgtca cctgctgctc cctgccagga 540
 ttccatagcc tggctatccg aggcgcgtg ctgctcctgt tgcgccgtgc tctggctgct 600
 15 ggcgccact gggctgcaact gggttggttg gctataccgg cggctttcac ccagtctggt 660
 gtttcccggtg agcacccttc gccctgaaa cctaagactt caagccatct ttcatttagg 720
 ccttctagga aggtcgagcg acaggggagc gacccaaagc gtctctgtgc c 771

20 <210>6
 <211>434
 <212>ADN
 <213>Mus musculus

25 <400>6

gagagaccca aggggtagtc agggacgggc agacatgcag ctagggttct ggggcctgga 60
 caggggcagc caggccctgt gacgggaaga ccccagctc cggcccgggg aggggccatg 120
 30 gtgtgcctg cccaacatgt cagccgaagt gcggtgagg cagctccagc agctggtgct 180
 ggacccaggc ttctgaggac tggagcccct gctcgacctt ctctggggcg tccaccagga 240
 gctgggtgcc tctcacctag cccaggacaa gtatgtggcc gacttcttgc agtgggtgga 300
 gccattgca gcaaggctta aggaggtccg actgcagagg gatgattttg agattttgaa 360
 ggtgatcggg cgtggggcgt tcagcgaggt agcgggtggtg aagatgaaac acacggagtc 420
 35 tttggcttcg gaca 434

40 <210>7
 <211>2688
 <212>AND
 <213>Mus musculus

<400>7

45 ccacgcgtcc gccacgcgt ccggggcaga catgcagcta gggttctggg gcctggacag 60
 gggcagccag gccctgtgac gggaagaccc cgagctccgg cccggggagg ggccatggtg 120
 ttgcctgcc aacatgtcag ccgaagtgcg gctgaggcag ctccagcagc tgggtgctgga 180
 cccaggcttc ctgggactgg agcccctgct cgaccttctc ctgggcgtcc accaggagct 240
 50 ggggtgcctct cacctagccc aggacaagta tgtggccgac ttcttgacgt ggggtggagcc 300
 cattgcagca aggcttaagg aggtccgact gcagagggat gatthttgaga ttttgaagg 360
 gatcgggctg ggggcgttca gcgaggtagc ggtggtgaag atgaaacaga cgggccaagt 420
 gtatgccatg aagattatga ataagtggga catgctgaag agaggcagag tgcctgtgctt 480
 ccgggaagaa agggatgtat tagtgaaagg ggaccggcgc tggatcacac agctgcactt 540
 55 tgccttcag gatgagaact acctgtacct ggtcatggaa tactacgtgg gcggggacct 600
 gctaacgctg ctgagcaagt ttggggagcg gatccccgcc gagatggctc gcttctacct 660
 ggccgagatt gtcattggcca tagactccgt gcaccggctg ggctacgtgc acagggacat 720
 caaaccagat aacattctgc tggaccgatg tgggcacatt cgcttgccag acttcggctc 780

60

65

ES 2 756 326 T3

5 ctgcctcaaa ctgcagcctg atggaatggt gaggtcgctg gtggctgtgg gcacccccgga 840
ctacctgtct cctgagattc tgcaggccgt tggaggagg cctggggcag gcagctacgg 900
gccagagtgt gactggtggg cactgggctg gttcacctat gagatgttct atgggcagac 960
ccccttctac gcggactcca cagccgagac atatgccaag attgtgact acaggggaaca 1020
cttgtcgctg ccgctggcag acacagttgt ccccaggaa gctcaggacc tcattcgtgg 1080
gctgctgtgt cctgctgaga taaggctagg tgcagggtgg gcagggtgatt tccagaaaca 1140
10 tcctttcttc tttggccttg attgggaggg tctccgagac agtgtacccc cctttacacc 1200
agacttcgag ggtgccacgg acacatgcaa tttcgatgtg gtggaggacc ggctcactgc 1260
catggtgagc gggggcgggg agacgctgtc agacatgcag gaagacatgc cccttggggg 1320
gcgctgccc ttcgtgggct actcctactg ctgcatggcc ttcagagaca atcaggtccc 1380
15 ggacccacc cctatggaac tagaggccct gcagttgcct gtgtcagact tgcaagggct 1440
tgacttgagc ccccagtggt ccccaccgga tcaagtggct gaagaggctg acctagtggc 1500
tgtccctgcc cctgtggctg aggcagagac cacggtaacg ctgcagcagc tccaggaagc 1560
cctggaagaa gaggttctca cccggcagag cctgagccgc gagctggagg ccatccggac 1620
cgccaaccag aacttctcca gccaaactaca ggaggccgag gtccgaaacc gagacctgga 1680
20 ggcgatggt cggcagctac aggaacggat ggagatgctg caggccccag gagccgcaga 1740
tcctagggc tggcctatcc gaggcgcgtt gcctgctcct gttcggcgt gctctggctg 1800
ctgccgccac actgggctgc actgggttgg tggcctatac cggcggctc accccagtct 1860
ggtgtttccc gggagccacc ttcgccccct gaaccctaag actccaagcc atctttcatt 1920
25 taggcctcct aggaaggctg agcagaccag gagcagccca aagcgtctct gtgcccatcg 1980
ccccccccc cccccccacc gctccgctcc acacttctgt gagcctgggt ccccaccag 2040
ctccgctcct gtgatccagg cctgccacct ggcggccggg gagggaggaa cagggctcgt 2100
gccagcacc cctggttcct gcagagctgg tagccaccgc tgctgcagca gctgggcatt 2160
cgccgacctt gctttactca gccccgact ggatgggcaa actgctcagc tcatccgatt 2220
30 tcaacttttc actctcccag ccatcagtta caagccataa gcatgagccc cctatttcca 2280
gggacatccc attcccatag tgatggatca gcaagacctc tgccagcaca cacggagtct 2340
ttggcttcgg acagcctcac tcctgggggt tgctgcaact ccttccccgt gtacacgtct 2400
gcactctaac aacggagcca cagctgact cccccctccc ccaaagcagt gtgggtatth 2460
attgatcttg ttatctgact cactgacaga ctccgggacc cacgttttag atgcattgag 2520
35 actcgacatt cctcgggtatt tattgtctgt ccccacctac gacctccact cccgacctt 2580
gcgaataaaa tacttctggt ctgccctaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 2688

40 <210>8
< 211>2862
<212>ADN
<213>Mus musculus
45 <400>8

50
55
60
65

ES 2 756 326 T3

	gggatagtca	gggacgggca	gacatgcagc	tagggttctg	gggcctggac	aggggcagcc	60
5	aggccctgtg	acgggaagac	cccagactcc	ggcccgggga	ggggccatgg	tgttgcctgc	120
	ccaacatgtc	agccgaagtg	cggctgaggc	agctccagca	gctggtgctg	gaccaggct	180
	tcctgggact	ggagcccctg	ctcgacctc	tcctgggctg	ccaccaggag	ctgggtgcct	240
	ctcacctagc	ccaggacaag	tatgtggccg	acttcttgca	gtgggtggag	cccattgcag	300
	caaggcttaa	ggaggtccga	ctgcagaggg	atgattttga	gattttgaag	gtgatcgggc	360
10	gtggggcgct	cagcgaggtg	gcggtggtga	agatgaaaca	gacgggcaaa	gtgtatgcca	420
	tgaagattac	gaataagtgg	gacatgctga	agagaggcga	ggtgtcgtgc	ttccgggaag	480
	aaagggatgt	attagtgaaa	ggggaccggc	gctggatcac	acagctgcac	tttgccttcc	540
	aggatgagaa	ctacctgtac	ctggtcatgg	aatactacgt	gggcggggac	ctgctaacgc	600
	tgctgagcaa	gtttggggag	cggatccccg	ccgagatggc	tcgcttctac	ctggccgaga	660
15	ttgtcatggc	catagactcc	gtgcaccggc	tgggctacgt	gcacagggac	atcaaaccag	720
	ataacattct	gctggaccga	tgtgggcaca	ttcgcctggc	agacttcggc	tcctgcctca	780
	aactgcagcc	tgatggaatg	gtgaggtcgc	tgggtggctgt	gggcaccccg	gactacctgt	840
	ctcctgagat	tctgcaggcc	gttgggtggag	ggcctggggc	aggcagctac	gggccagagt	900
	gtgactggtg	ggcactgggc	gtgttcacct	atgagatggt	ctatgggcag	accccttct	960
20	acgcggactc	cacagcccag	acatatgccg	agattgtgca	ctacagggaa	cacttgtcgc	1020
	tgccgctggc	agacacagtt	gtccccgagg	aagctcagga	cctcattcgt	gggtctgtct	1080
	gtcctgctga	gataaggcta	ggtcagagtg	ggcaggtga	tttccagaaa	ccctcttct	1140
	tctttggcct	tgattgggag	ggtctccgag	acagtgtacc	cccctttaca	ccagacttcg	1200
25	agggtgccac	ggacacatgc	aatttcgatg	tgggtggagga	ccggctcact	gccatggaga	1260
	cgctgtcaga	catgcaggaa	gacatgcccc	ttggggtgcg	cctgcccctc	gtgggctact	1320
	cctactgctg	catggccttc	agagacaatc	aggtcccggg	ccccaccctt	atggaactag	1380
	aggccctgca	gttgcctgtg	tcagacttgc	aagggttga	cttgcagccc	ccagtgtccc	1440
30							
	caccggatca	agtggctgaa	gaggctgacc	tagtggctgt	ccctgccctt	gtggctgagg	1500
	cagagaccac	ggtaacgctg	cagcagctcc	aggaagccct	ggaagaagag	gttctcacc	1560
	ggcagagcct	gagccgcgag	ctggaggcca	tccggaccgc	caaccagaac	ttctccagcc	1620
35	aactacagga	ggccgaggtc	cgaaaccgag	acctggaggc	gcatgttcgg	cagctacagg	1680
	aacggatgga	gatgctgcag	gccccaggag	ccgcagccat	cacgggggtc	cccagtcccc	1740
	gggccacgga	tccaccttcc	catgcttctc	gccaatcct	ccccaggga	actccctaga	1800
	ctcccgttct	ggcctcgact	agattcccgc	actgctctc	gccctgctgc	tgggctccga	1860
	tcgggtcacc	tgtcccttct	ctctccagct	agatggcccc	ccggccgtgg	ctgtgggcca	1920
	gtgcccgctg	gtggggccag	gccccatgca	ccgccgtcac	ctgctgctcc	ctgccaggat	1980
40	ccctaggcct	ggcctatccg	aggcgcgttg	cctgctcctg	ttcgccgctg	ctctggctgc	2040
	tgccgccaca	ctgggctgca	ctgggttggg	ggcctatacc	ggcgggtctc	ccccagtctg	2100
	gtgtttcccg	ggagccacct	tcgccccctg	aaccctaaga	ctccaagcca	tctttcattt	2160
	aggcctccta	ggaaggtcga	gcgaccaggg	agcgacccaa	agcgtctctg	tgcccatcgc	2220
45	ccccccccc	ccccccaccg	ctccgctcca	cacttctgtg	agcctgggtc	ccccccagc	2280
	tccgctcctg	tgatccaggc	ctgccacctg	gcggccgggg	agggaggaa	agggtcgtg	2340
	cccagcacc	ctgggtcctg	cagagctggt	agccaccgct	gctgcagcag	ctgggcattc	2400
	gccgaccttg	ctttactcag	ccccgacgtg	gatgggcaaa	ctgctcagct	catccgattt	2460
	cactttttca	ctctcccagc	catcagttac	aagccataag	catgagcccc	ctatttccag	2520
50	ggacatccca	ttcccatagt	gatggatcag	caagacctct	gccagcacac	acggagtctt	2580
	tggcttcgga	cagcctcact	cctgggggtt	gctgcaactc	cttccccgtg	tacacgtctg	2640
	cactctaaca	acggagccac	agctgcactc	ccccctcccc	caaagcagtg	tgggtattta	2700
	ttgatcttgt	tatctgactc	actgacagac	tccgggacct	acgtttttaga	tgcattgaga	2760
	ctcgacattc	ctcggtattt	attgtctgtc	cccacctacg	acctccactc	ccgacccttg	2820
55	cgaataaaat	acttctggtc	tgccctaaaa	aaaaaaaaaa	aa		2862

60 <210>9
 <211>18 <
 212>ADN
 <213> Secuencia artificial

65 <220>
 <223>Cebador

<400>9
 agcctgagcc gggagatg 18

5 <210>10
 <211>21
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223>Cebador

<400>10
 gcgtagttga ctggcgaagt t 21

15 <210>11
 <211>21
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220><
 223>Cebador

<400>11
 aggccatccg cacggacaac c 21

25 <210>12
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>12
 ctggctgcat gtctgcctgt 20

35 <210>13
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>13
 ccaggagaag gtcgagcagg 20

45 <210>14
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>14
 tctatggcca tgacaatctc 20

55 <210>15
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <400>15
 atgtccctgt gcacgtagcc 20
 <210>16
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

15 <400>16
 atgtgtccgg aagtcgcctg 20
 <210>17
 <211>20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Sintético oligonucleótido

25 <400>17
 ctcaggctct gccgggtgag 20
 <210>18
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

35 <400>18
 ggcaactggcc cacagccacg 20
 <210>19
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Sintético oligonucleótido

45 <400>19
 cctggccgaa agaagaaat 20
 <210>20
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>20
 aaagaaatgg tctgtgatcc 20
 <210>21
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>21

aagaaagaaa tggctgtga 20
 <210>22
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 10
 <400>22
 ggccgaaaga aagaaatggt 20
 <210>23
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 20
 <400>23
 cctcagcctg gccgaaagaa 20
 25
 <210>24
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>24
 gggcctcagc ctggccgaaa 20
 35
 <210>25
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>25
 tcaggcctc agcctggccg 20
 45
 <210>26
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 55
 <400>26
 ctgcagtttg cccatccag 20
 <210>27
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65
 <400>27

ggctgcagt tgcccatcc 20
 <210>28
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 10
 <400>28
 ccaggcctgc agttgcca 20
 <210>29
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 20
 <400>29
 gcctcccag gcctgcagt 20
 25
 <210>30
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>30
 gctgccttcc caggcctgca 20
 35
 <210>31
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>31
 cttgctgcct tcccaggcct 20
 45
 <210>32
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 < 400>32
 gcccggcttg ctgcctccc 20
 55
 <210>33
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65
 <400>33

acggcccggc ttgctgcctt 20

5 <210>34
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>34
cggacggccc ggcttgctgc 20

15 <210>35
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>35
acacggacgg cccggcttgc 20

25 <210>36
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

35 <400>36
gatggaacac ggacggcccg 20

40 <210>37
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>37
gaggatgga cacggacggc 20

50 <210>38
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>38
gtggaggatg gaacacggac 20

60 <210>39
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

65 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>39
 gcgaaccaac gataggtggg 20

5 <210>40
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>40
 tttgcgaacc aacgataggt 20

15 <210>41
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>41
 ttgcactttg cgaaccaacg 20

25 <210>42
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>42
 gctttgcact ttgcgaacca 20

35 <210>43
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>43
 aaagctttgc actttgcgaa 20

45 <210>44
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>44
 aagaaagctt tgcactttgc 20

55 <210>45
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>45
 cacaagaaag cttgcactt 20

5
 <210>46
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

15
 <400>46
 gtcatgcaca agaaagcttt 20

20
 <210>47
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Se artificial cuencia

25
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30
 <400>47
 acgctcccca gagcagggcg 20

35
 <210>48
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45
 <400>48
 gcagagatcg cgccagacgc 20

50
 <210>49
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60
 <400>49
 caggcagaga tcgcccaga 20

65
 <210>50
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

70
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

75
 <400>50
 aagcaggcag agatcgcgcc 20

80
 <210>51
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

85
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>51
 ccgagtaagc aggcagagat 20

5
 <210>52
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>52
 ttcccagta agcaggcaga 20

15
 <210>53
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>53
 gcaaattcc cgagtaagca 20

25
 <210>54
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>54
 aaagcaaatt t cccgagtaa 20

35
 <210>55
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45
 <400>55
 ttggcaaaag caaattccc 20

<210>56
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55
 <400>56
 ggtttgcaa aagcaaattt 20

<210>57
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65

<400>57
 gcgggtttgg caaaagcaaa 20
 5
 <210>58
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>58
 aaagcgggtt tggcaaaagc 20
 15
 <210>59
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>59
 cccgaaaaag cgggtttggc 20
 25
 <210>60
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>60
 atccccgaaa aagcgggttt 20
 35
 <210>61
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 45
 <400>61
 cgggatcccc gaaaagcgg 20
 50
 <210>62
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>62
 gcgcgggatc cccgaaaaag 20
 60
 <210>63
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 65
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>63
 gagagcagcg caagtgagga 20
 5
 <210>64
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético <
 400>64
 tccgagagca gcgcaagtga 20
 15
 <210>65
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 25
 <400>65
 ggctccgaga gcagcgcaag 20
 <210>66
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 35
 <400>66
 aagcgggagg agccggctgg 20
 <210>67
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 45
 <400>67
 ccgaagcggg cggagccggc 20
 <210>68
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 55
 <400>68
 aaaccgccga agcgggagga 20
 <210>69
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>69
 tccaaaccgc cgaagcgggc 20
 5 <210>70
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético <
 400>70
 15 atatccaac cgccgaagcg 20
 <210>71
 <211>20
 < 212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>71
 25 taaatatcca aaccgccgaa 20
 <210>72
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>72
 35 caataatat ccaaaccgcc 20
 <210>73
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>73
 45 cgaggatcaat aatatcca 20
 <210>74
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>74
 55 ggacgaggtc aataaatatc 20
 <210>75
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>75
 ggaggacgag gtcaataat 20

5

<210>76
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>76
 gtcggaggac gagtcaata 20

15

<210>77
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>77
 cgagtcggag gacgaggtca 20

25

<210>78
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>78
 tgcagcggag tcggaggacg 20

35

<210>79
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>79
 gcctgcagc gtagtcggagg 20

45

<210>80
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>80
 gtagcctgtc agcgagtcgg 20

55

<210>81
 <211>
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65

<400>81
 cctgtagcct gtcagcgagt 20
 5 <210>82
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 < 400>82
 ggtcctgtag cctgtcagcg 20
 15 <210>83
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>83
 aaataccgag gaatgtcggg 20
 25 <210>84
 <211>20
 <21 2>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>84
 aataaatacc gaggaatgtc 20
 35 <210>85
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>85
 gacaataaat accgaggaat 20
 45 <210>86
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>86
 cggggccccc gagtcgaaga 20
 55 <210>87
 <211>20
 <212>ADN
 < 213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>87
 ccaacggggc cccgggagtcg 20
 5 <210>88
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>88
 15 ttccaacggg gcc 20
 <210>89
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>89
 25 gtcttccaac ggggccccgg 20
 <210>90
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>90
 35 cagtctcca acggggcccc 20
 <210>91
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 < 220>
 <223>oligonucleo sintético marea
 45 <400>91
 ctcagtctc caacggggcc 20
 <210>92
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>92
 55 gcactcagtc ttccaacggg 20
 <210>93
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>93
 ccccgggcac tcagtctcc 20
 5
 <210>94
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 < 400>94
 tgccccgggc actcagtctt 20
 15
 <210>95
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>95
 cgtgccccgg gactcagtc 20
 25
 <210>96
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>96
 gtgccgtgcc ccgggcactc 20
 35
 <210>97
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>97
 tctgtccgt gccccggca 20
 45
 <210>98
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>98
 gcttctgtgc cgtgccccgg 20
 60
 <210>99
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 65
 <220>
 <223>Oligo sintético nucleótido

<400>99
 gcggctctg tgccgtgcc 20
 5 <210>100
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>100
 gcgcggttc tggcgtgc 20
 15 <210>101
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>101
 gggcgggct tctgtccgt 20
 25 <210>102
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>102
 ggcggtggc gcgctctg 20
 35 <210>103
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>103
 ggcaggggt gggcgggct 20
 45 <210>104
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>104
 ctggcaggcg gtggcggg 20
 55 <210>105
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético <

400>105
aactggcagg cggtgggcgc 20

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

10 <220>
<223>Oligónucleótido sintético

<400>106
gtgaactggc aggcggtggg 20

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

20 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

25 <400>107
ggttgatgaac tggcaggcgg 20

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

30 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

35 <400>108
gcggtgtga actggcaggc 20

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

40 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

45 <400>109
cggagcgggt gtgaactggc 20

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

50 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

55 <400>110
cgctcggagc ggttgatgaac 20

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

65 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>111
 cccacgctcg gagcggttgt 20
 5 <210>112
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>112
 agaccacgc tcggagcgt 20
 15 <210>113
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>113
 cggagacca cgctcgagc 20
 25 <210>114
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>114
 gggcggagac ccacgctcg 20
 35 <210>115
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>115
 gctggcgga gaccacgct 20
 45 <210>116
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 < 400>116
 ggagctgggc ggagaccac 20
 55 <210>117
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>117
 ctggagctgg gcggagacc 20
 5 <210>118
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>118
 ggactggagc tggcgagaga 20
 15 <210>119
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>119
 caggactgga gctggcgaga 20
 25 <210>120
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>120
 atcacaggac tggagctggg 20
 35 <210>121
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>121
 gggcgggccc g gatcacagg 20
 45 <210>122
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>122
 gggggcgggc ccgatcaca 20
 55 <210>123
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>123
 aggcagcacc atggcccctc 20

5 <210>124
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

15 <400>124
 ggtccaacac cagctgctgg 20

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

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

25 <400>125
 cgatcacctt cagaatctcg 20

30 <210>126
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

35 <400>126
 ctgttcacg atcttcacg 20

40 <210>127
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>127
 cccattcac caacacgtcc 20

50 <210>128
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

55 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400>128
 gcgtgatcca ccgccggtcc 20

60 <210>129
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>129
 gtaatactcc atgaccaggt 20
 5 <210>130
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>130
 gcagtgtag cagggtcccg 20
 15 <210>131
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>131
 caccgagtct atggccatga 20
 25 <210>132
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>132
 acgtagccaa gccggtgcac 20
 35 <210>133
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>133
 atgtggccac agcgggtccag 20
 45 <210>134
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>134
 ctcgtccac cagcggcaga 20
 55 <210>135
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>135
 gacccttcg tccacca gcg 20

5

<210>136
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>136
 cctgctccac cccggcccag 20

15

<210>137
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>137
 cggaagtcgc ctgctccacc 20

25

<210>138
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>138
 cggagacat cccagtcgag 20

35

<210>139
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>139
 tgaggccat gcaggagtag 20

45

<210>140
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>140
 ctccagttcc atgggtgtgg 20

55

<210>141
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65

<400>141
 gcgctgcac gtgtggctca 20
 5 <210>142
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>142
 gccacttcag ctgttc atc 20
 15 <210>143
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>143
 gcctcagcct ctgccgagg 20
 25 <210>144
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>144
 gcagcgtcac ctcggcctca 20
 35 <210>145
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>145
 ggctcaggct ctgccggt 20
 45 <210>146
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>146
 ttccgagcct ctgcctcgcg 20
 55 <210>147
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>147
 ggtcccggtt ccgagcctct 20
 5 <210>148
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>148
 atccgctct gcaactgccg 20
 15 <210>149
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>149
 gcaactccat ccgctcctgc 20
 25 <210>150
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>150
 aggtgatcc gtgcccggg 20
 35 <210>151
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>151
 cgcggcttct gtgccgtgcc 20
 45 <210>152
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>152
 ttgctgcctt cccaggcctg 20
 55 <210>153
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>153
 tgctcccgac aagctccaga 20

5

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

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>154
 agaacctgcc cattgctgaa 20

15

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

20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>155
 cactgagggc cagacatatg 20

25

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

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>156
 ctctagattc agatgcaggt 20

35

<210>157
 <211>15
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223>Cebador

45

<400>157
 cgggccgtcc gt gtt 15

50

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

55

<220>
 <223>Cebador

<400>158
 cttgcactt tgcaaccaa 20

60

<210>159
 <211>21
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

65

<220>
 <223>Cebador

<400>159
 catcctccac gcacccccac c 21

5

<210>160
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>160
 gcctggcagc ccctgtccag 20

15

<210>161
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>161
 ggctggcag ccctgtcca 20

25

<210>162
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>162
 ggcctggca gccctgtcc 20

35

<210>163
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>163
 atggcccctc cccgggccg 20

45

<210>164
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>164
 catggcccct cccgggccg 20

55

<210>165
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65

<400>165
 ccatggcccc tccccggcc 20
 5 <210>166
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>166
 accatggccc ctccccgcg 20
 15 <210>167
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220><
 223>Oligonucleótido sintético
 <400>167
 cacatggccc cctccccggg 20
 25 <210>168
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 35 <400>168
 gcacatggcc ccctccccgg 20
 <210>169
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 < 220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 45 <400>169
 agcacatgg ccctccccg 20
 <210>170
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 55 <400>170
 cagcacatg gccctcccc 20
 <210>171
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>171
 gcagcacat ggcccctcc 20
 5 <210>172
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligo sintético nucleótido
 <400>172
 15 ggcagcacca tggcccctcc 20
 <210>173
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>173
 25 caggcagcac catggccct 20
 <210>174
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>174
 35 acaggcagca ccatggcccc 20
 <210>175
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>175
 45 ggacaggcag caccatggcc 20
 <210>176
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>176
 55 tggacaggca gcacatggc 20
 <210>177
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>177
 ttggacaggc agcaccatgg 20
 5 <210>178
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>178
 gttggacagg cagcaccatg 20
 15 <210>179
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 20 <220>
 <223>Oligo sintético nucleótido
 <400>179
 tgttgacag gcagcaccat 20
 25 <210>180
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>180
 atgttgaca ggcagcacca 20
 35 <210>181
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>181
 catgttgac aggcagcacc 20
 45 <210>182
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>182
 acatgttga caggcagcac 20
 55 <210>183
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>183
 gacatgttg acaggcagca 20

5

<210>184
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>184
 tgacatgtg gacaggcagc 20

15

<210>185
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>185
 ctgacatgtt ggacaggcag 20

25

<210>186
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>186
 gctgacatgt tggacaggca 20

35

<210>187
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45

<400>187
 ggctgacatg ttggacaggc 20

50

<210>188
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 < 223>Oligonucleótido sintético

<400>188
 cggtgacat gttggacagg 20

60

<210>189
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

65

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>189
 tcggctgaca tgttgacag 20
 5
 <210>190
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>190
 ctcggctgac atgttgaca 20
 15
 <210>191
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>191
 cctcggctga catgttgac 20
 25
 <210>192
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 < 400>192
 acctcggctg acatgttga 20
 35
 <210>193
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>193
 cacctcggct gacatgttg 20
 45
 <210>194
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <22 0>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>194
 gcacctcggc tgacatgttg 20
 55
 <210>195
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>195
 cgcacctcgg ctgacatgtt 20

5

<210>196
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>196
 ccgcacctcg gctgacatgt 20

15

<210>197
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>197
 gccgcacctc ggctgacatg 20

25

<210>198
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>198
 agccgcacct cggtgacat 20

35

<210>199
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>199
 cagccgcacc tcggctgaca 20

45

<210>200
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>200
 tcagccgcac ctcggctgac 20

55

<210>201
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65

<400>201
 ctgagccgca cctcggctga 20
 5
 <210>202
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>202
 cctcagccgc acctcggctg 20
 15
 <210>203
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>203
 gcctcagccg cacctcggct 20
 25
 <210>204
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>204
 ccaacaccag ctgctggagc 20
 35
 <210>205
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>205
 tccaacacca gctgctggag 20
 45
 <210>206
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>206
 gtccaacacc agctgctgga 20
 55
 <210>207
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>207
 ggtccaaca ccagctgctg 20
 5 <210>208
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>208
 ggctccagcc ccaggaagcc 20
 15 <210>209
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>209
 gggctccagc cccaggaagc 20
 25 <210>210
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>210
 caggagaagg tcgagcaggg 20
 35 <210>211
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>211
 cccaggagaa ggtcgagcag 20
 45 <210>212
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>212
 gccaggaga aggtcgagca 20
 55 <210>213
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>213
 cgcccaggag aaggtcgagc 20
 5
 <210>214
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>214
 acgcccagga gaaggtcgag 20
 15
 <210>215
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>215
 tcctgggcca gttcggagc 20
 25
 <210>216
 <211>20
 < 212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>216
 gtcctgggcc agttcggagg 20
 35
 <210>217
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>217
 tgcctgggc cagttcgag 20
 45
 <210>218
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>218
 ttgcctggg ccagttcgga 20
 55
 <210>219
 <211>20
 <212>ADN
 < 213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>219
 cttgtcctgg gccagttcgg 20
 5
 <210>220
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>220
 actggtcctg ggccagttcg 20
 15
 <210>221
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>221
 tactgtcct gggccagttc 20
 25
 <210>222
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>222
 gtactgtcc tggccagtt 20
 35
 <210>223
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>223
 cgtactgtc ctggccagt 20
 45
 <210>224
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>224
 actgcaagaa gtcggccacg 20
 60
 <210>225
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 65
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>225
 ccactgcaag aagtcggcca 20
 5 <210>226
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Sintético oligonucleótido
 <400>226
 cccactgcaa gaagtcggcc 20
 15 <210>227
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>227
 gccactgca agaagtcggc 20
 25 <210>228
 <211>20 <
 212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>228
 cgcccactgc aagaagtcgg 20
 35 <210>229
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>229
 ccgcccactg caagaagtcg 20
 45 <210>230
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>230
 tccgcccact gcaagaagtc 20
 55 <210>231
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial <
 60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65

<400>231
 ctccgcccac tgcaagaagt 20
 5 <210>232
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>232
 gctccgccc ctgcaagaag 20
 15 <210>233
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>233
 ggctccgcc actgcaagaa 20
 25 <210>234
 <211>20 <
 212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>234
 gggctccgcc cactgcaaga 20
 35 <210 235
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>235
 tgggctccgc cactgcaag 20
 45 <210>236
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 < 223>Oligonucleótido sintético
 <400>236
 atgggctccg cccactgcaa 20
 55 <210>237
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>237
 gatgggctcc gccactgca 20
 5 <210>238
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>238
 cgatgggctc cgcccactgc 20
 15 <210>239
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>239
 acgatgggct ccgcccactg 20
 25 <210>240
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>240
 cacgatgggc tccgcccact 20
 35 <210>241
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>241
 ccacgatggg ctccgcccac 20
 45 <210>242
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>242
 accacgatgg gctccgcca 20
 55 <210>243
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Secuencia Artificial
 60 <220>
 < 223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>243
 caccacgatg ggctccgcc 20
 5 <210>244
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>244
 tcaccacgat gggctccgcc 20
 15 <210>245
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>245
 ctcaccacga tgggctccgc 20
 25 <210>246
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>246
 cctcaccacg atgggctccg 20
 35 <210>247
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>247
 gcctcaccac gatgggctcc 20
 45 <210>248
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>248
 agcctcacca cgatgggctc 20
 55 <210>249
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>249
 aagcctcacc acgatggct 20
 5 <210>250
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>250
 taagcctcac cacgatggc 20
 15 <210>251
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>251
 ttaagcctca ccacgatggg 20
 25 <210>252
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>252
 accacgatgg ctaagcctc 20
 35 <210>253
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>253
 ccttaagcct caccacgatg 20
 45 <210>254
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>254
 tccttaagcc tcaccacgat 20
 55 <210>255
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>255
 ctcttaagc ctcaccacga 20

5

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

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>256
 cctcctaag cctcaccacg 20

15

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

20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>257
 acctcctaa gcctcaccac 20

25

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

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>258
 gacctccta agcctacca 20

35

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

40

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético ide

45

<400>259
 ggacctcct aagcctcacc 20

50

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

55

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>260
 cggacctcct taagcctcac 20

60

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

65

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>261
 tcggacctcc ttaagcctca 20

5

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

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>262
 gtcggacctc ctaagcctc 20

15

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

20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>263
 cagtcggacc tccttaagcc 20

25

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

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>264
 gcagtcggac ctccttaagc 20

35

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

40

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>265
 tgagtcgga ctccttaag 20

45

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

50

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>266
 ccttcagaat ctcgaagtcg 20

55

<210>267
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65

<400>267
 accttcagaa tctcgaagtc 20

5

<210>268
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>268
 tcaccttcag aatctcgaag 20

15

<210>269
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223>Sintético oligonucleótido

<400>269
 atcacctca gaatctcga 20

25

<210>270
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>270
 gatcacctc agaatctcga 20

35

<210>271
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>271
 ccgatcacct tcagaatctc 20

45

<210>272
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>272
 tccgatcacc tcagaatct 20

55

<210>273
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65

<400>273
 gtccgatcac cttcagaatc 20

5

<210>274
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>274
 cgtccgatca ccttcagaat 20

15

<210>275
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>275
 cccgtctgct tcatcttcac 20

25

<210>276
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>276
 gcccgctgct tcatcttca 20

35

<210>277
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>277
 ggcccgtctg cttcatcttc 20

45

<210>278
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>278
 tggcccgtct gcttcatctt 20

55

<210>279
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65

<400>279
 ctggcccgtc tgctcatct 20
 5 <210>280
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>280
 cctggcccgt ctgctcatc 20
 15 <210>281
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>281
 acctggcccg tctgctcat 20
 25 <210>282
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>282
 cacctggccc gtctgctca 20
 35 <210>283
 <211>
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>283
 acacctggcc cgtctgctc 20
 45 <210>284
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 < 400>284
 tacacctggc ccgtctgctt 20
 55 <210>285
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>285
 ttgtcatga tcttcatggc 20
 5 <210>286
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético <
 15 <400>286
 actgttcat gatcttcatg 20
 <210>287
 <211>20
 <212>ADN
 < 213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 25 <400>287
 cactgttca tgatcttcat 20
 <210>288
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 35 <400>288
 ccactgttc atcttca 20
 <210>289
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 45 <400>289
 cccactggt catgatcttc 20
 <210>290
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 55 <400>290
 tcccactgt tcatgatctt 20
 <210>291
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>291
 gtcccacttg ttcgatgatct 20
 5 <210>292
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>292
 15 tgtcccactt gttcatgatc 20
 <210>293
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>293
 25 atgtcccact tggatgat 20
 <210>294
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>294
 35 catgtcccac ttgttcatga 20
 <210>295
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>295
 45 gcatgtccca ctgttcatg 20
 <210>296
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>296
 55 agcatgtccc actgttcat 20
 <210>297
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>297
 cagcatgtcc cactgttca 20
 5 <210>298
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>298
 tcagcatgtc ccactgtccc 20
 15 <210>299
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>299
 ttcagcatgt cccactgtt 20
 25 <210>300
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>300
 cttcagcatg tcccactgt 20
 35 <210>301
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 < 223>Oligonucleótido sintético
 <400>301
 tcttcagcat gtcccactg 20
 45 <210>302
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>302
 cctctcagc atgtcccact 20
 55 <210>303
 < 211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>303
 ccctctcag catgtccac 20
 5
 <210>304
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>304
 cccctctca gcatgtcca 20
 15
 <210>305
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>305
 gccctcttc agcatgtccc 20
 25
 <210>306
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>306
 cgcccctctt cagcatgtcc 20
 35
 <210>307
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>307
 tcgcccctct tcagcatgtc 20
 45
 <210>308
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>308
 ttcagcatgt ctcgccctc 20
 55
 <210>309
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>309
 cctcgcccct cttcagcatg 20
 5 <210>310
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> sintético oligonucleótido
 <400>310
 acctcgccc tcttcagcat 20
 15 <210>311
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 < 400>311
 cacctcgccc ctcttcagca 20
 25 <210>312
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>312
 acacctcgccc cctcttcagc 20
 35 <210>313
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>313
 gacacctcgc ccctcttcag 20
 45 <210>314
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>314
 gccaggcg tgtggccaca 20
 55 <210>315
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65

<400>315
 accgcaccgt tccatctgcc 20
 5 <210>316
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>316
 gaccgcaccg ttccatctgc 20
 15 <210>317
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>317
 acagcctgca g gatctcggg 20
 25 <210>318
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>318
 cacagcctgc ag gatctcgg 20
 35 <210>319
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>319
 ccacagcctg caggatctcg 20
 45 <210>320
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>320
 cccacagcct gcaggatctc 20
 55 <210>321
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>321
 gccacagcc tgcaggatct 20
 5 <210>322
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>322
 cgcccacagc ctgcaggatc 20
 15 <210>323
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>323
 ccgcccacag cctgcaggat 20
 25 <210>324
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>324
 accgcccaca gcctgcagga 20
 35 <210>325
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>325
 caccgcccac agcctgcagg 20
 45 <210>326
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>326
 ccaccgcccac agcctgcag 20
 55 <210>327
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>327
 cccaccgccc acagcctgca 20
 5 <210>328
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>328
 gccaccgccc cacagcctgc 20
 15 <210>329
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>329
 ggcccaccgc ccacagcctg 20
 25 <210>330
 <211>20
 < 212>ADN
 < 213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>330
 aggccaccgc cccacagcct 20
 35 <210>331
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>331
 caggcccacc gccacagcc 20
 45 <210>332
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>332
 ccaggcccac cgcccacagc 20
 55 <210>333
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

<400>333
 cccaggccca ccgcccacag 20
 5 <210>334
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>334
 15 tcccaggccc accgcccaca 20
 <210>335
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>335
 25 gtcccaggcc caccgcccac 20
 <210>336
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>336
 35 tgtcccaggc ccaccgccc 20
 <210>337
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>337
 45 ctgtcccagg cccaccgccc 20
 <210>338
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 <400>338
 55 cctgtcccag gccaccgccc 20
 <210>339
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 65 <223>Oligonucleótido sintético

<400>339
 gcctgtccca ggcccaccgc 20

5 <210>340
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>340
 tgctgtccc aggcccaccg 20

15 <210>341
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

< 400>341

25 ctgcctgtcc caggcccacc 20

<210>342
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

35 <400>342
 gctgcctgtc ccaggcccac 20

<210>343
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>343
 agctgcctgt cccaggccca 20

<210>344
 <211>20
 <212>ADN
 < 213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>344
 tagctgcctg tccaggccc 20

55 <210>345
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <400>345
gtagctggcct gtccaptgcc 20
<210>346
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

15 <400>346
cgtagctgcc tgtcccaggc 20

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

25 <220>
<223> Oligonucleótido sintético

30 <400>347
ccgtagctgc ctgtcccagg 20

35 <210>348
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Oligonucleótido sintético

45 <400>348
cccgtagctg cctgtcccag 20

50 <210>349
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

60 <400>350
ggcccgtagc tgctgtccc 20

65 <210>351
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>351
 tagaacattt cataggcgaa 20

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

10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>352
 tctccgccgt ggaatccgcg 20

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

20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>353
 gtctccgccg tggaatccgc 20

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

30
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400>354
 ggtctccgcc gtggaatccg 20

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

40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45
 <400>355
 cgtggaatcc agtctccgc 20

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

50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>356
 taggtctccg ccgtggaatc 20

55
 <210>357
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>357
 ttgtagtgga cgatctgcc 20
 5
 <210>358
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>358
 cttgtagtgg acgatctgc 20
 15
 <210>359
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>359
 cctttagtg gacgatctg 20
 25
 <210>360
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>360
 tcctttagt ggacgatctt 20
 35
 <210>361
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>361
 ctcttgtagt tggacgatct 20
 45
 <210>362
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>362
 gctccttgta gggacgatc 20
 55
 <210>363
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65

5 <400>363
 tgctcctgt agtggacgat 20
 <210>364
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 15 <400>364
 gtgctcctg tagtggacga 20

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

 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 25 <400>365
 ggtgctcct gtagtggacg 20

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

 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 35 <400>366
 aggtgctcct tgtagtggac 20

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

 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 45 <400>367
 gaggtgctcc ttgtagtgga 20

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

 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 55 <400>368
 agaggtgctc cttgtagtgg 20

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

 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 65 <400>369

gagaggtgct ccttgtagt 20

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

10 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>370
agagaggtgc tccttgtagt 20

15 <210>371
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>371
gagagaggtg ctcttgtagt 20

25 <210> 372
<211>20
<212>ADN
<213>Secuencia artificial

30 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>372
agagagaggt gtccttgta 20

35 <210>373
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

40 <220>
< 223>Oligonucleótido sintético

45 <400>373
cagagagagg tgctcctgt 20

<210>374
<211>20
<212>ADN
50 <213> Secuencia artificial

<220>
<223>Oligonucleótido sintético

55 <400>374
ggcagagaga ggtgctcctt 20

<210>375
<211>20
<212>ADN
60 <213> Secuencia artificial

<220>
<223>Oligonucleótido sintético

65 <400>375

cggcagagag aggtgctct 20
 <210>376
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial S secuencia
 5
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 10
 <400>376
 gcggcagaga gaggtgctcc 20
 <210>377
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 20
 <400>377
 agcggcagag agaggtgctc 20
 25
 <210>378
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>378
 cagcggcaga gagaggtgct 20
 35
 <210>379
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>379
 ccagcggcag agagaggtgc 20
 45
 <210>380
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 < 223>Oligonucleótido sintético
 55
 <400>380
 ggcccagccg tgtctccggg 20
 <210>381
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65
 <400>381

5 cggcccagcc gtgctccgg 20
 <210>382
 <211> 20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 10 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>382
 cggcccagc cgtgtctccg 20

 15 <210>383
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>383
 cccggcccag ccgtgtctcc 20

 25 <210>384
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>384
 ccccggcca gccgtgtctc 20

 35 <210>385
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>385
 accccggccc agccgtgtct 20

 45 <210>386
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>386
 caccccggcc cagccgtgtc 20

 55 <210>387
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 65 <400>387

ccaccccggc ccagccgtg 20

5 <210>388
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>388
tccaccccg cccagccgtg 20

15 <210>389
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>389
ctccacccg gccagccgt 20

25 <210>390
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>390
gctccaccc ggcccagccg 20

35 <210>391
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

45 <400>391
tgctccacc cggcccagcc 20

50 <210>392
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>392
ctgctccacc ccgcccagc 20

60 <210>393
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

65 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>393

aagggatgtc tccggaagtc 20
 <210>394
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 10
 <400>394
 gaagggatgt gtccggaagt 20
 <210>395
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 < 220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 20
 <400>395
 agaagggatg tgtccggaag 20
 25
 <210>396
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>396
 aagaaggat gtgtccgga 20
 35
 <210>397
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>397
 gaagaaggga tgtgtccgga 20
 45
 <210>398
 < 211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 55
 <400>398
 agaagaagg atgtgtccgg 20
 <210>399
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65
 <400>399

aagaagaagg gatgtgccg 20
 <210>400
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 10
 <400>400
 aaagaagaag g gatgtgcc 20
 <210>401
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 20
 <400>401
 caaagaaga g gatgtgc 20
 25
 <210>402
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>402
 ccaagaaga ag gatgtgt 20
 35
 <210>403
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>403
 ggccaaaga ga aggatgt 20
 45
 <210>404
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 55
 <400>404
 aggccaaaga a ga aggatg 20
 <210>405
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 65
 <400>405

gaggccaaag aagaaggat 20

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

10 <220>
<223> Sintético oligonucleótido

<400>406
cgaggccaaa gaagaagga 20

15 <210>407
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Oligonucleótido sintético

<400>407
tcgaggccaa agaagaagg 20

25 <210>408
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Oligonucleótido sintético

<400>408
gtcgaggcca aagaagaagg 20

35 <210>409
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Oligonucleótido sintético

45 <400>409
agtcgaggcc aaagaagaag 20

50 <210>410
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Oligonucleótido sintético

55 <400>410
cagtcgaggc caaagaaga 20

60 <210>411
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

65 <220>
<223> Oligonucleótido sintético

<400>411

ccagtcgagg ccaaagaaga 20
 <210>412
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético
 10
 <400>412
 cccagtcgag gccaagaag 20
 <210>413
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 20
 <400>413
 tcccagtcga ggccaaga 20
 25
 <210>414
 <211>20
 < 212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>414
 atcccagtcg aggccaaga 20
 35
 <210>415
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>415
 catcccagtc gaggccaag 20
 45
 <210>416
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>416
 ccatcccagtc gaggccaaa 20
 55
 <210>417
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65
 <400>417

accatcccag tcgaggccaa 20
 <210>418
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 10
 <400>418
 gaccatccca gtcgaggcca 20
 <210>419
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 20
 <400>419
 agaccatccc agtcgaggcc 20
 25
 <210>420
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>420
 gagaccatcc cagtcgaggc 20
 35
 <210>421
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 40
 < 220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>421
 ggagaccatc ccagtcgagg 20
 45
 <210>422
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 55
 <400>422
 ttcgaaatcc ggtgtaaagg 20
 <210>423
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 65
 <400>423

cttcgaaatc cgggtgtaaag 20

5 <210>424
< 211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223>Oligonucleótido sintético
<400>424
ccttcgaaat cgggtgtaa 20

15 <210>425
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

25 <400>425
accttcgaaa tccggtgtaa 20

30 <210>426
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

40 <400>426
caccttcgaa atccggtgta 20

45 <210>427
<211>20
< 212>ADN
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

55 <400>427
gcaccttcga aatccggtgt 20

60 <210>428
<211>20
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

65 <220>
<223>Oligonucleótido sintético <

400>429
tggcaccttc gaaatccggt 20

5 <210> 430
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 10 <400>430
 gtggcacctt cgaaatccg 20

 <210>431
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 < 223>Oligonucleótido sintético

 20 <400>431
 ggtggcacct tcgaaatccg 20

 <210>432
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 30 <400>432
 cgggtggcacc ttcgaaatcc 20

 <210>433
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 40 <400>433
 tcggtggcac cttcgaaatc 20

 <210>434
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 50 <400>434
 gtcgggtggca ccttcgaaat 20

 <210>435
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 60 <400>435
 tgtcgggtggc accttcgaaa 20

5 <210>436
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>436
 ggtcgcgtgg cacctcga 20

<210>437
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>437
 tggcgcgtg gcacctca 20

<210>438
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>438
 atggcgcgt ggacctca 20

<210>439
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>439
 catggcgcg tggacctc 20

<210>440
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>440
 gcatgtgctg gtggacct 20

<210>441
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>441
 tgcattgtc ggtggacct 20

5 <210>442
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>442
 ttgcatgtgt cgggtggcacc 20

<210>443
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>443
 gttgcatgtg tcggtggcac 20

<210>444
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>444
 agttgcatgt gtcggtggca 20

<210>445
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>445
 aagttgcatg tgtcgtggc 20

<210>446
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Sintético oligonucleótido

50 <400>446
 gaagttgcat gtgtcgtgg 20

<210>447
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>447
 cgaagttgca tgtgtcgtg 20

5 <210>448
 <211>20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>448
 gtcgaagtg catgtgctcg 20

<210>449
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>449
 agtcgaagt gcatgtgctg 20

<210>450
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>450
 aagtcgaagt tgcattgctc 20

35 <210> 451
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>451
 caagtcgaag ttgcatgtgt 20

<210>452
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 < 223>Oligonucleótido sintético

55 <400>452
 ccaagtcgaa gttgcatgtg 20

<210>453
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>453
 accaagtcga agttgcatgt 20

5 <210>454
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>454
 caccaagtcg aagttgcatg 20

<210>455
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>455
 ccaccaagtc gaagttgcat 20

<210>456
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>456
 tccaccaagt cgaagttgca 20

<210>457
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>457
 ctccaccaag tcgaagttgc 20

<210>458
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>458
 cctccaccaa gtcgaagttg 20

<210>459
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>459
 tcctccacca agtcgaagtt 20

65

5 <210>460
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>460
 gtcctccacc aagtcgaagt 20

15 <210>461
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>461
 cgtcctccac caagtcgaag 20

25 <210>462
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>462
 ccgtcctcca ccaagtcgaa 20

35 <210>463
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>463
 cccgtcctcc accaagtcga 20

45 <210>464
 <211>20
 <212>DN A
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>464
 gcccgctctc caccaagtcg 20

60 <210>465
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>465
 agcccgctct ccaccaagtc 20

5 <210>466
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>466
 gagcctcc tccaccaagt 20

<210>467
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>467
 tgagcccgtc ctccaccaag 20

<210>468
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>468
 ggtccgagc ctctgcctcg 20

<210>469
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>469
 cggttccgag cctctgcctc 20

<210>470
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>470
 ccggtccga gcctctgcct 20

<210>471
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>471
 cccggtccg agcctctgcc 20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>471
 cccggtccg agcctctgcc 20

5 <210>472
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>472
 tcccggttcc gagcctctgc 20

<210>473
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>473
 gtcccggttc cgagcctctg 20

<210>474
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>474
 aggtcccgg tccgagcctc 20

<210>475
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>475
 taggtcccgg ttccgagcct 20

45 <210>476
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>476
 ctaggtcccg gttccgagcc 20

<210> 477
 <211> 20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>477
 tctaggtccc ggttccgagc 20

5 <210>478
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10 <400>478
 ctctaggtcc cggttccgag 20

<210>479
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>479
 cctctaggtc ccggttccga 20

<210>480
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>480
 gcctctaggt cccggttccg 20

<210>481
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>481
 catccgctcc tgcaactgcc 20

<210>482
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>482
 ccatccgctc ctgcaactgc 20

<210>483
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>483
 tccatccgct cctgcaactg 20

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <210>484
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>484
 ctccatccgc tctgcaact 20

15 <210>485
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>485
 actccatccg ctctgcaac 20

25 <210>486
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>486
 aactcatcc gctctgcaa 20

35 <210>487
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>487
 caactcatc cgctcctgca 20

50 <210>488
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Sintético oligonucleótido

55 <400>488
 agcaactcca tccgctctg 20

60 <210>489
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>489
 cagcaactcc atccgctct 20

5 <210>490
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>490
 gcagcaactc catccgctcc 20

<210>491
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>491
 cagctgtggc tccctctgcc 20

<210>492
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>492
 acagctgtgg ctcctctgc 20

<210>493
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>493
 gacagctgtg gctccctctg 20

<210>494
 <211>20 <
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>494
 tgacagctgt ggctccctct 20

<210>495
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>495
 gtgacagctg tggctccctc 20

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <210>496
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>496
 cgtgacagct gtggctcct 20

<210>497
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>497
 ccgtgacagc tgtggctccc 20

<210>498
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Sintético oligonucleótido

30 <400>498
 cccgtgacag ctgtggctcc 20

<210>499
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>499
 ccccgtgaca gctgtggctc 20

<210>500
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>500
 cccccgtgac agctgtggct 20

<210>501
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>501
 acccccgtga cagctgtggc 20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>501
 acccccgtga cagctgtggc 20

5 <210>502
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>502
 gacccccgtg acagctgtgg 20

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

20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>503
 ggacccccgt gacagctgtg 20

25 <210>504
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>504
 gggacccccg tgacagctgt 20

35 <210>505
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>505
 gaaggtggat ccgtggccc 20

50 <210>506
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>506
 ggaagtgga tccgtggccc 20

60 <210>507
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>507
 ggaaggtgg atccgtggcc 20

5 <210>508
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>508
 tgggaagtg gatccgtgc 20

<220 509
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>509
 atgggaaggt g gatccgtg 20

<210>510
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 < 223>Oligonucleótido sintético

30 <400>510
 gatgggaagg tggatccgtg 20

35 <210>511
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>511
 tagatgggaa ggtgatccg 20

45 <210>512
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>512
 ctatagtgga aggtgatcc 20

55 <210>513
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>513
 tctatagtgga aaggtgatc 20

5 <210>514
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 < 400>514
 atctagatgg gaagtgat 20

<210>515
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>515
 ccatctagat ggaagtgat 20

<210>516
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>516
 gccatctaga tgggaagtg 20

<210>517
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>517
 ggccatctag atgggaagtg 20

<210>518
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>518
 caccagcggg cactggcca 20

<210>519
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>519
 ccaccagcgg gcactggccc 20

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <210>520
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>520
 cccaccagcg ggcactggcc 20

15 <210>521
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>521
 cccaccagc ggcactggc 20

25 <210>522
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>522
 ggccccacca gcggcactg 20

35 <210>523
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>523
 tggccccacc agcggcact 20

50 <210>524
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>524
 ctggccccac cagcggcac 20

60 <210>525
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>525
 cctggcccca ccagcgggca 20

5 <210>526
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 10 <400>526
 gcctggcccc accagcggc 20

 15 <210>527
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>527
 ggcctggcc ccaccagcgg 20

 25 <210>528
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>528
 aggtggcggc ggtgcatgg 20

 35 <210>529
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>529
 caggtggcgg cgggcatgg 20

 45 <210>530
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>530
 gcaggtggcg gcggtcatg 20

 55 <210>531
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 65 <400>531
 agcaggtggc ggcggtcat 20

5 <210>532
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>532
 cagcaggtgg cgcggtgca 20

<210>533
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 < 220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>533
 gcagcaggtg gcggcggtgc 20

<210>534
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>534
 agcagcaggt ggcggcggtg 20

<210> 535
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>535
 gagcagcagg tggcgcggt 20

45 <210>536
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

<400>536
 ggagcagcag gtggcgcg 20

<210>537
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>537
 gggagcagca ggtggcgcg 20

65

5 <210>538
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 10 <400>538
 agggagcagc aggtggcggc 20

 <210>539
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 20 <400>539
 cagggagcag caggtggcgg 20

 <210>540
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 30 <400>540
 gcagggagca gcaggtggcg 20

 <210>541
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial <

 35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 40 <400>541
 gccagggagc agcaggtggc 20

 <210>542
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 50 <400>542
 tggcagggag cagcaggtgg 20

 <210>543
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 60 <400>543
 ctggcagga gcagcaggtg 20

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 65 <400>543
 ctggcagga gcagcaggtg 20

5 <210>544
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>544
 ccctggcagg gagcagcagg 20

<210>545
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>545
 accctggcag ggagcagcag 20

<210>546
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>546
 gaccctggca gggagcagca 20

<210>547
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>547
 ggaccctggc agggagcagc 20

45 <210>548
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>548
 ggccctagga ccctggcagg 20

<210>549
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>549
 aggcctaggg accctggcag 20

5 <210>550
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>550
 ccaggcctag ggaccctggc 20

<210>5 51
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>551
 gccaggccta gggaccctgg 20

<210>552
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 < 223>Oligonucleótido sintético

30 <400>552
 ggccaggcct agggaccctg 20

<210>553
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>553
 aggccaggcc tagggaccct 20

<210>554
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>554
 taggccaggc ctagggaccc 20

<210>555
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>555
 ataggccagg cctagggacc 20

5 <210>556
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 < 400>556
 gataggccag gcctaggac 20

<210>557
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>557
 cgataggcca ggctaggga 20

<210>558
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>558
 ccgataggcc aggctaggg 20

<210>559
 <211>20
 < 212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>559
 tccgataggc caggcctagg 20

<210>560
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>560
 ctccgatagg ccaggcctag 20

<210>561
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>561
 cctccgatag gccaggccta 20

5 <210>562
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>562
 gcctccgata ggccaggcct 20

15 <210>563
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>563
 gcgcctccga taggccaggc 20

25 <210>564
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>564
 aacaggagca gggaaagcgc 20

35 <210>565
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>565
 gaacaggagc agggaaagcg 20

50 <210>566
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>566
 cgaacaggag cagggaaagc 20

60 <210>567
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>567
 gcgaacagga gcagggaaag 20

5 <210>568
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>568
 ggccaacagg agcagggaaa 20

<210> 569
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>569
 cggccaacag gagcagggaa 20

<210>570
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>570
 acggccaaca ggagcagggaa 20

35 <210>571
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>571
 aacggccaac aggagcaggg 20

<210>572
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>572
 caacggcgaac caggagcagg 20

<210>573
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>573
 gggcggcggc acgagacaga 20

5 <210>574
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>574
 agggcggcgg cacgagacag 20

15 <210>575
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>575
 cagggcggcg gcacgagaca 20

25 <210>576
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>576
 ccagggcggc ggcacgagac 20

35 <210>577
 <211>20
 <212>ADN <
 213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>577
 cccagggcgg cggcacgaga 20

50 <210>578
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>578
 gccagggcgg gcggcacgag 20

60 <210>579
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>579
 agcccagggc ggccgcacga 20

5 <210>580
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>580
 cagcccaggg cggcggcac 20

<210>581
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>581
 gcagcccagg gcggcggcac 20

<210>582
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>582
 ctgcggtgag ttggccggcg 20

<210>583
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>583
 actgcggtga gttggccggc 20

<210>584
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>584
 gactgcggtg agttggccgg 20

<210>585
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>585
 agactgcggt gagttggccg 20

5 <210>586
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>586
 cagactgagg tgagttggcc 20

15 <210>587
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Sintético oligonucleótido

<400>587
 ccagactgag gtagttggc 20

25 <210>588
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>588
 gccagactgc ggtgagttgg 20

35 <210>589
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>589
 cgccagactg cggtagttg 20

50 <210>590
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>590
 aagacagttc tagggttcag 20

60 <210>591
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

65 <400>591
 gaagacagtt ctagggttca 20

5 <210>592
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>592
 cgaagacagt tctagggtc 20

<210>593
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>593
 tcgaagacag ttctagggtt 20

<210>594
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30 <400>594
 gtcgaagaca gttctagggt 20

<210>595
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>595
 agtcgaagac agttctaggg 20

<210>596
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>596
 gagtcgaaga cagtctagg 20

<210>597
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>597
 ggagtcgaag acagttctag 20

5 <210>598
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>598
 cggagtcgaa gacagtcta 20

<210>599
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>599
 ccggagtcga agacagtct 20

<210>600
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>600
 cccggagtcg aagacagtc 20

<210>601
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>601
 ccccggagtc gaagacagtt 20

<210>602
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>602
 gccccggagt cgaagacagt 20

<210>603
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>603
 ggccccggag tcgaagacag 20

5 <210>604
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>604
 gggccccgga gtcgaagaca 20

<210>605
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>605
 aggcggtggg cgcggttct 20

<210>606
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>606
 caggcggtgg ggcggttc 20

<210>607
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>607
 gcaggcggtg ggcggttc 20

<210>608
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>608
 tggcaggcgg tgggcgggc 20

<210>609
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

60 <400>609
 actggcaggc ggtgggcgcg 20

5 <210>610
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>610
 gaactggcag gcggtggcg 20

<210>611
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>611
 tgaactggca ggcggtggc 20

<210>612
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>612
 tgtgaactgg caggcgtgg 20

<210>613
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>613
 tggagctggg cggagacca 20

<210>614
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>614
 actggagctg ggcggagacc 20

<210>615
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>615
 gactggagct ggcggagacc 20

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>615
 gactggagct ggcggagacc 20

5 <210>616
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>616
 aggactggag ctggcgagg 20

<210>617
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>617
 acaggactgg agctggcg 20

<210>618
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>618
 cacaggactg gagctggcg 20

<210>619
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Sintético oligonucleótido

40 <400>619
 tcacaggact ggagctggc 20

<210>620
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>620
 gcctcagcct ggccgaaaga 20

<210>621
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>621
 ggctcagcc tggccgaaag 20

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <210>622
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>622
 tggtagagcc aagccctccc 20

<210>623
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>623
 gggcacctc agagcctgaa 20

<210>624
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>624
 accccactgc aagaagtcgg 20

<210>625
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>625
 gccccaggat gggaggatct 20

<210>626
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>626
 cataggacag agaaatgtg 20

<210>627
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>627
 tgctgacctt actctgcccc 20

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <210>628
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>628
 taagccatgg ctctgagtca 20

<210>629
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>629
 agagaggcca tgggaggctg 20

<210>630
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>630
 ctggccctcc tgcttgccc 20

35 <210>631
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>631
 agctgccccca tgctggccct 20

45 <210>632
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>632
 gccctggca gctgcccct 20

55 <210>633
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>633
 ctgtcggctg cgcccctggc 20

5 <210>634
 <211>20
 < 212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220><
 223>Oligonucleótido sintético
 10 <400>634
 cgccgaacac ctgcctgtcg 20

 <210>635
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 20 <400>635
 cctcccagtg cctgggcacc 20

 <210>636
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 30 <400>636
 g'gcctgtct gcaaagctgg 20

 <210>637
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>637
 cccaaagttg tcctcctg 20
 45 <210>638
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>638
 acaccagaa gaaccaaag 20
 55 210>639
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>639
 ctgaccaca cggctcatag 20
 65

5 <210>640
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>640
 tggccccagg ccctggaaag 20

<210>641
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>641
 gacaaggcag ctggcagaag 20

<210>642
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>642
 aagaaaccag tgaccagtga 20

35 <210> 643
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>643
 ctgtgaaatg ggaggaggag 20

<210>644
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>644
 gaaggtttt ccagaggctg 20

<210>645
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>645
 ggccaggaga gtcattaggg 20

5 <210>646
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>646
 ccacaaaagg agtgctctc 20

<210>647
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>647
 cctttaagg cagcaggaac 20

<210>648
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>648
 ctaggactgt ctgctcca 20

<210>649
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>649
 gtcattcatc aatttctaag 20

<210>650
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>650
 ggaggagctg cagccggaga 20

<210>651
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 < 223>Oligonucleótido sintético

60 <400>651
 gcacccggag gagctgcagc 20

5 <210>652
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>652
 gcacgacacc tgcagggcac 20

<210>65
 <210>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>653
 agctcaccag gtagttctca 20

<210>654
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>654
 gcttctctc cccacctct 20

<210>655
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>655
 gcagaccccc caatcctaga 20

<210>656
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>656
 gccctcatc cacctgacac 20

<210>657
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>657
 ttccaggtaa gagaccccc 20

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <210>658
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>658
 agaataggtc ccagacactc 20

<210>659
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>659
 ctcccctga gatgtctgg 20

<210>660
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>660
 cccagccca gagataacca 20

<210>661
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>661
 cctgatccat cacggatggc 20

<210>662
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>662
 tactccatga ccaggtactg 20

<210>663
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>663
 gctctgacct tccaagaacc 20

5 <210>664
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>664
 ctccctctg tggcccacc 20

<210>665
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>665
 gtcgggttg atgtccctgc 20

<210>666
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>666
 agggcactgg ctcaccgttc 20

35 <210>667
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Sintético oligonucleótido

<400>667
 gggccctcct tccaaccact 20

45 <210>668
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>668
 gccaccct ctggcccac 20

55 <210>669
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>669
 aggagcagag cgaggcttg 20

5 <210>670
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 10 <400>670
 cacctttag taggacgatct 20

 <210>671
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 20 <400>671
 ctaccccgcc cccgctcacc 20

 <210>672
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 30 <400>672
 ctaggctact gctgggtcct 20

 <210>673
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>673
 ctcagatagc tcccactcc 20

 45 <210>674
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 <400>674
 aattctctaa ttctctagac 20

 <210>675
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 65 <400>675
 tacctgaggg ccatgcagga 20

5 <210>676
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>676
 gtccaagac tgatcctgca 20

<210>677
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>677
 aggagggcgg tggcgcggcg 20

<210>678
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>678
 tgacagctgg aaggagaaga 20

<210>679
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>679
 catgggaagg tggatccgtg 20

<210>680
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>680
 ggaggtatc tagggagatc 20

<210>681
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>681
 gaaggacag gtgaccgat 20

<210>681
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>681
 gaaggacag gtgaccgat 20

5 <210>682
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>682
 cgtaccctgg cagggagcag 20

< 210>683
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>683
 ggactcgccc cgctacgcc 20

25 <210>684
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>684
 ctctctgggac tcgccccgcc 20

35 <210>685
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>685
 gctcctggga ctcgccccgc 20

45 <210>686
 < 211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>686
 attggctctt gggactcgcc 20

55 <210>687
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>687
 gattggctcc tgggactcgc 20

5 <210>688
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

10 <400>688
 gcctctgatt ggctctggg 20

<210>689
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>689
 gcatgggct ctgattggct 20

<210>690
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>690
 caccggcat gggcctctga 20

<210>691
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>691
 gccaggccta gggacctgcg 20

<210>692
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>692
 ttctcccc aacctgatt 20

<210>693
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>693
 aagttgcag caacttttct 20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>693
 aagttgcag caacttttct 20

5 <210>694
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>694
 gccctcgga attcccgct 20

<210>695
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>695
 catctcgcc tgcgctccgc 20

<210>696
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>696
 gcaggcccc acattccca 20

35 <210>697
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>697
 ctctgcacg cctccgtctc 20

<210>698
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>698
 tggccacag ccacggcgg 20

<210>699
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>699
 ggctggccc caccagcggg 20

5 <210>700
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>700
 cctggcaggg agcagcaggt 20

15 <210>701
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>701
 cagccgcact tcggctgaca 20

25 <210>702
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>702
 gcctgggtcc agcaccagct 20

35 <210>703
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>703
 gtcccaggaa gcctgggtcc 20

50 <210>704
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético

55 <400>704
 cgttagcagg tcccgcacca 20

60 <210>705
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>705
 gtctatggcc atgacaatct 20

5 <210>706
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>706
 gtagcccagc cggcgcacgg 20

<210>707
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>707
 gggcgtccac agccaccagc 20

<210>708
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>708
 tggcccgtag ctgcctgccc 20

<210>709
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>709
 ggaaatcacc tgccccacct 20

<210>710
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>710
 ggatgttct ggaaatcacc 20

<210>711
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>711
 gtggcaccct cgaagtctgg 20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>711
 gtggcaccct cgaagtctgg 20

5 <210>712
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>712
 ccccgctcac catggcagtg 20

<210>713
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>713
 ggtccgggac ctgattgtct 20

<210>714
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>714
 gctgcatgct tgcccgtccc 20

<210>715
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>715
 ggccccagaa ccctagctgc 20

<210>716
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>716
 tcacagggcc tggctgcccc 20

<210>717
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 < 223>Oligonucleótido sintético

60 <400>717
 ggctgacatg ttgggcaggc 20

65

5 <210>718
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>718
 tgtccaggcc ccagaacct 20

<210>719
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>719
 ggccaggcct agggatctgc 20

<210>720
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>720
 cgctctggat aggccaggcc 20

<210>721
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>721
 ggcttgagct ctagggctc 20

<210>722
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>722
 tccccggccg ccaggtggca 20

<210>723
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>723
 ggtgctgggc acgagccctg 20

5 <210>724
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>724
 gccagctgc tgcagcagcg 20

<210>725
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>725
 ccgtgtgtgc tggcagaggt 20

<210>726
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>726
 ataaataccg aggaatgtcg 20

<210>727
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>727
 gggacagaca ataaataccg

<210>728
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>728
 gtcagccca gtgtggcggc 20

<210>729
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>729
 cctggagaag ttctggttg 20

5 <210>730
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>730
 ggtgaccgca tcggagccca 20

<210>731
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>731
 agctggagag agaagggaca 20

<210>732
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>732
 gtgagggact cgctgcggc 20

<210>733
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>733
 gcggctgcgg tgccccagcc 20

<210>734
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>734
 gggccatcta gctggagaga 20

<210>735
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>735
 cccactgca agaagtcggc 20

5 <210>736
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>736
 ttgagccctt ttaaggcagc 20

<210>737
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>737
 tgaccaggtg ctgggagcgg 20

25 <210>738
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>738
 cctggagctg gatcagctcc 20

35 <210>739
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>739
 acatgggaag gtggatccgt 20

45 <210>740
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>740
 gtgggacata ccctggcagg 20

55 <210>741
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>741
 gccaggccta gggatctgca 20

5 <210>742
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>742
 ggaagcacga cacctcgct 20

<210>743
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>743
 cctcaccatt ccatcaggct 20

<210>744
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>744
 cggcagcgac aagtggtccc 20

<210>745
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>745
 gtctctgaag gccatgcagc 20

<210>746
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>746
 cagccacttg atccggtggg 20

<210>747
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>747
 cttcagccac aggtcggcct 20

5 <210>748
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>748
 gttggctgga gaagttctgg 20

<210>749
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>749
 ccccgtgatg gctgctgctc 20

<210>750
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>750
 aggccaggcc tagggatcct 20

<210>751
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>751
 ggcgcggtgc cccagcctgg 20

<210>752
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>752
 gtcttgccc caccagcggg 20

<210>753
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>753
 ccaggcctac gaatcctggc 20

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>753
 ccaggcctac gaatcctggc 20

5 <210>754
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>754
 ggcctcgga tagccaggcc 20

<210>755
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>755
 cccagtgtgg cgcagcagcc 20

<210>756
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>756
 ggtttcatc ttcaccaccg 20

<210>757
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>757
 aggtcagcct ctcagccac 20

<210>758
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>758
 ggccatattg gaaggtgat 20

<210>759
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>759
 ggaggatttg gcgagaagca 20

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <210>760
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>760
 cgaagtctgc cccacctga 20

<210>761
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>761
 gggcaccct cgaagtctgc 20

<210>762
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Oligonucleótido sintético

30 <400>762
 ggttcattg taaggaagct 20

<210>763
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>763
 ggtgccaca gccaccaggg 20

<210>764
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>764
 tccatggcag tgagccggtc 20

<210>765
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>765
 gggaccactt gatccggtgg 20

65 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

5 <210>766
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>766
 ggatcagagt tgggaccact 20

<210>767
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>767
 ccccgatg gctgcggtc 20

<210>768
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>768
 gtgtgtcctc atacccgcc 20

<210>769
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>769
 gcaccctcga agtctcgacc 20

<210>770
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>770
 gctctgaagg ccatgcagca 20

<210>771
 <211>25
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Cebador

65 <400>771
 gacatatgcc aagattgtgc actac 25

5 <210>772
 <211>21
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Cebador

 10 <400>772
 cacgaatgag gtctgagct t 21

 15 <210>773
 <211>22
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Cebador

 20 <400>773
 aacactgtc gctgccgctg gc 22

 25 <210>774
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 30 <400>774
 agcaggcct cacttgcg 20

 35 <210>775
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 40 <400>775
 gggaagcgag gcttcactg 20

 45 <210>776
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223>Sintético oligonucleótido

 <400>776
 gcggtcagcg atcccagggt 20

 55 <210>777
 <211>20
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 60 <400>777
 ggggtccagc gcggtgatct 20

 65

5 <210>778
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>778
 tgttacaag aaagtgactg 20

<210>779
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>779
 cgatggcagc aacggaagtt 20

<210>780
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>780
 gtcagtttac gatggcagca 20

<210>781
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>781
 cagggcttgg ttcgaaaaa 20

<210>782
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

50 <400>782
 ccatttctt ccacagggt 20

<210>783
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

60 <400>783
 atgcttctc aagttttcca 20

5 <210>784
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>784
 cagaatgact ttaatgcttc 20

15 <210>785
 <211>21
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223>Cebador

<400>785
 ccaccgcaaa tgctctaga c 21

25 <210>786
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Cebador

<400>786
 cccccatt gagaagattc 20

35 <210>787
 <211>24
 <212>ADN
 <213>Artificial Secuencia

40 <220>
 <223>Cebador

<400>787
 ctccacctcc agcacgagac ttct 24

45 <210>788
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>788
 gcggtcagcg atcccagggt 20

60 <210>789
 <211>25
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>789
 agcagcagca gcagcagcag cagca 25

5 <210>790
 <211>20
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 10 <400>790
 agcagcagca gcagcagcag 20

 <210>791
 <211>15
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

 20 <400>791
 gcagcagcag cagca 15

 <210>792

 25 <400>792

 000

 30 <210>793
 < 211>2611
 <212>ADN
 <213>Mus musculus

 35 <400>793

 40

 45

 50

 55

 60

 65

5 cgggaagacc ccgagctccg gcccggggag gggccatggt gttgcctgcc caacatgtca 60
 gccgaagtgc ggctgaggca gctccagcag ctggtgctgg acccaggctt cctgggactg 120
 gagcccctgc tcgaccttct cctgggcgtc caccaggagc tgggtgcctc tcacctagcc 180
 caggacaagt atgtggccga cttcttgacg tgggtggagc ccattgcagc aaggcttaag 240
 gaggtccgac tgcagagggg tgatthttgag atthttgaagg tgatcggggc tggggcgctt 300
 10 agcgaggtag cggtggtgaa gatgaaacag acgggccaag tgatgccat gaagattatg 360
 aataagtggg acatgctgaa gagagggcag gtgtcgtgct tccgggaaga aagggatgta 420
 ttagtgaaag gggaccggcg ctggatcaca cagctgcact ttgccttcca ggatgagaac 480
 tacctgtacc tggatcatgga atactacgtg ggcggggacc tgctaacgct gctgagcaag 540
 tttggggagc ggatccccgc cgagatggct cgcttctacc tggccgagat tgtcatggcc 600
 atagactccg tgcaccggct gggctacgtg cacagggaca tcaaaccaga taacattctg 660
 15 ctggaccgat gtgggcacat tgcctggca gacttcggct cctgcctcaa actgcagcct 720
 gatggaatgg tgaggtcgct ggtggctgtg ggcaccccg actacctgtc tcctgagatt 780
 ctgcaggccg ttggtggagg gcctggggca ggcagctacg ggccagagtg tgactggtgg 840
 gcaactggcg tgttcaccta tgagatgttc tatgggcaga ccccttcta cgcggactcc 900
 acagccgaga catatgcca gattgtgcac tacagggaac acttgtcgct gccgctggca 960
 20 gacacagttg tccccgagga agctcaggac ctcatctgtg ggctgctgtg tcctgctgag 1020
 ataaggctag gtcgaggtgg ggcagacttc gaggtgcca cggacacatg caatthcgat 1080
 gtggtggagg accggctcac tgccatggtg agcggggcg gggagacgct gtcagacatg 1140
 caggaagaca tgccccttgg ggtgcgctg ccctcgtgg gctactccta ctgctgcatg 1200
 25 gccttcagag acaatcaggt cccggacccc acccctatgg aactagagg cctgcaagtg 1260
 cctgtgtcag acttgcaagg gcttgacttg cagccccag tgtccccacc ggatcaagtg 1320
 gctgaagagg ctgacctagt ggctgtccct gccctgtgg ctgaggcaga gaccacggta 1380
 acgctgcagc agctccagga agccctggaa gaagaggttc tcacccggca gagctgagc 1440
 cgcgagctgg aggccatccg gaccgccaac cagaacttct ccagccaact acaggaggcc 1500
 30 gaggtccgaa accgagacct ggaggcgcag gttcggcagc tacaggaacg gatggagatg 1560
 ctgcaggccc caggagccgc agccatcacg ggggtcccca gtccccgggc cacggatcca 1620
 ccttcccatc tagatggccc cccggccgtg gctgtgggccc agtgcccgct ggtggggcca 1680
 ggccccatgc accgcccgtc cctgctgctc cctgccagga tccctaggcc tggcctatcc 1740
 gaggcgcgtt gcctgctcct gttgcgctg gctctggctg ctgccgccac actgggctgc 1800
 35 actgggttgg tggcctatac cggcgtctc accccagtct ggtgtttccc gggagccacc 1860
 ttcgccccct gaaccctaag actccaagcc atctttcatt taggcctcct aggaaggtcg 1920
 agcgcaccag gagcgacca aagcgtctct gtgcccacg ccccccccc cccccccacc 1980
 gctccgctcc acacttctgt gagcctgggt ccccaccag ctccgctcct gtgatccagg 2040
 40 cctgccacct ggcgccggg gagggaggaa cagggtcgt gccagcacc cctggttcc 2100
 gcagagctgg tagccaccgc tgctgcagca gctgggcatt cgccgacctt gctttactca 2160
 gccccgacgt ggatgggcaa actgctcagc tcatccgatt tcactttttc actctcccag 2220
 ccatcagtta caagccataa gcatgagccc cctatttcca gggacatccc attcccatag 2280
 tgatggatca gcaagacctc tgccagcaca cacggagtct ttggcttcgg acagcctcac 2340
 45 tcctgggggt tgctgcaact ccttccccgt gtacacgtct gcaactaac aacggagcca 2400
 cagctgcact cccccctccc ccaaagcagt gtgggtatth attgatcttg ttatctgact 2460
 cactgacaga ctccgggacc cacgtthttag atgcattgag actcgacatt cctcggtatt 2520
 tattgtctgt cccacactac gacctccact cccgaccctt gcgaataaaa tacttctggt 2580
 50 ctgccctaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 2611

<210>794
 <211>988
 <212>ADN
 55 <213>Mus musculus

 <220>
 <221>misc_feature
 <222>531, 942
 60 <223>n = A, T, Co G

 <400>794

65

ES 2 756 326 T3

5 gctggaccgg tccggaattc tccggatcgc cagcctttgt gggccatatt cgtcatccct 60
 cctggcttct catctgcttt tgtggctcta gctcaagacc tctaattcct ctgctgactt 120
 aaatgcoctt cccagaggtt cttctcaggc ctagtggaca agcttggagc cttatctgct 180
 cctgccccaac attgagccaa agctccagct taccacagct tccttacaat ggacccatt 240
 gcagcaagc ttaaggaggt ccgactgcag agggatgatt ttgagatttt gaaggtgatc 300
 10 gggcgtgggg cgttcagcga ggtagcgggt gtgaagatga aacagacggg ccaagtgtat 360
 gccatgaaga ttatgaataa gtgggacatg ctgaagagag gcgaggtgct gtgcttccgg 420
 gaagaaaggg atgtattagt gaaaggggac cggcgcctgga tcacacagct gcactttgcc 480
 ttccaggatg agaactacct gtacctggct atggaatact acgtgggagg ngacctgcta 540
 acgctgctga gcaagttttg gggagcggat ccccgccgag atggctcgt tctacctggc 600
 15 cgagattgct atggccatag actccgtgca cgggctgggc tacgtgcaca gggacatcaa 660
 accagataac attctgctgg accgatgtgg gcacattcgc ctggcagact tccgctcctg 720
 gcctcaactg cagcctgatg gaatggtgga gtcccctggt ggctgtgggc acccccggac 780
 tacctgtctc ctgaaattct gcagggcctt ggtgggaggc cctggggaag gcaactacgg 840
 20 gccaaaagtt ggaagggggg ggccctgggg gggttcccct atgaaaagtt ctatggggag 900
 gacccccttt aagcggaatc ccagggcga aaatatgccc angattgggc cctaacaggg 960
 aaaacttttc ccctgcccct gggacaat 988

25 <210>795
 <211>649
 <212>ADN
 <213>Mus musculus

30 <400>795
 ggcgtggtcg cctatgagat gttctatggg cagaccccct tctacgcgga ctccacagcc 60
 gagacatatg ccaagattgt gcactacagg gaacacttgt cgctgccgct ggcagacaca 120
 gttgtccccg aggaagctca ggacctcatt cgtgggctgc tgtgtcctgc tgagataagg 180
 35 ctaggctcag gtggggcagg tgatttccag aaacatcctt tcttctttgg ccttgattgg 240
 gagggctccc gagacagtgt acccccctt acaccagact tcgaggggtc cacggacaca 300
 tgcaatthtc atgtggtgga ggaccggctc actgccatgg agacgctgct agacatgcag 360
 gaagacatgc cccttggggg gcgctgccc ttctgtgggt actcctactg ctgcatggcc 420
 ttccagagaca atcaggtccc ggaccccacc cctatggaac tagaggccct gcagttgcct 480
 40 gtgtcagact tgcaagggct tgacttgca ccccagtggt ccccaccgga tcaagtggct 540
 ccaactctga tcccaccgga caggctgaag aggctgacct agtggtgctc cctgcccctg 600
 tggctgaggc agagccacgg taacgctgca gcagctccag gaagccctg 649

45 <210>796
 <211>527
 <212>ADN
 <213>Mus musculus

50 <400>796
 atttogatgt ggtggaggac cggctcactg ccatggtgag cgggggaggg gagacgctgt 60
 cagacatgca ggaagacatg ccccttgggg tgccctgccc cttctgtggg tactcctact 120
 gctgcatggc cttcagagac aatcaggtcc cggaccccac ccctatggaa cttagggccc 180
 55 tgcagttgcc tgtgtcagac ttgcaagggc ttgacttgca gccccagtg tcccaccgg 240
 atcaagtggc tgaagaggct gacctagtgg ctgtccctgc cctgtgggt gaggcagaga 300
 ccacggtaac gctgcagcag ctccaggaag ccctggaaga agaggttctc acccggcaga 360
 gcctgagccg cgagctggag gccatccgga ccgccaacca gaacttctcc aggaggccga 420
 60 ggtccgaaac cgagacctgg aggcgcatgt tcggcagcta caggaacgga tggagatgct 480
 gcagggcccca ggaaccgag ccatcacggg ggtcccagc cccccgg 527

65 <210>797
 <211>567
 <212>ADN

ES 2 756 326 T3

<213>Mus musculus

<400>797

5
atggtgaggt cgctggtggc tgtgggcacc cgggactacc tgtctcctga gattctgcag 60
gccgttgggtg gagggcctgg ggcaggcagc tacgggcccag agtgtgactg gtgggcactg 120
ggcgtgttcg cctatgagat gttctatggg cagaccccct tctacgcgga ctccacagcc 180
10 gagacatatg ccaagattgt gcactacagg gaacacttgt cgctgccgct ggcagacaca 240
gttgtccccg aggaagctca ggacctcatt cgtgggctgc tgtgtcctgc tgagataagg 300
ctaggtcgag gtggggcagg tgatttccag aaacatcctt tcttctttgg ccttgattgg 360
gaggtctcc gagacagtgt accccccttt acaccagact tcgagggtgc cacggacaca 420
tgcaatctcg atgtggtgga ggaccggctc actgccatgg tgagcggggg cgggggatga 480
15 ggacacacag gtgaccagtc cccaagacag tgagtgaggc ttcactcttg gcagtactaa 540
aattgaatgt agggggctgg gctcttg 567

<210>798

20 <211>2474

<212>ADN

<213>Mus musculus

<400>798

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 756 326 T3

5 cccggaagaa agggatgtat tagtgaaagg ggaccggcgc tggatcacac agctgcactt 60
 tgccttccag gatgagaact acctgtacct ggtcatggaa tactacgtgg gcggggacct 120
 gctaacgctg ctgagcaagt ttggggagcg gatccccgcc gagatggctc gcttctacct 180
 ggccgagatt gtcatggcca tagactccgt gcaccggctg ggctacgtgc acagggacat 240
 caaaccagat aacattctgc tggaccgatg tgggcacatt cgctggcag acttcggctc 300
 ctgcctcaaa ctgcagcctg atggaatggt gaggtcgctg gtggctgtgg gcaccccgga 360
 ctacctgtct cctgagattc tgcaggccgt tggaggagg cctggggcag gcagctacgg 420
 10 gccagagtgt gactggtggg cactgggcgt gttcgctat gagatgttct atgggcagac 480
 ccccttctac gcggactcca cagccgagac atatgccaaag attgtgcaact acagggaca 540
 cttgtcgctg ccgctggcag acacagttgt ccccaggaa gctcaggacc tcattcgtgg 600
 gctgctgtgt cctgctgaga taaggctagg tgcgacttc gaggtgcca cggacacatg 660
 caatttcgat gtggtggagg accggctcac tgccatggtg agcggggcg gggagacgct 720
 15 gtcagacatg caggaagaca tgccccttgg ggtgcgcctg ccctcgtgg gctactccta 780
 ctgctgcatg gccttcagag acaatcaggt cccggacccc acccctatgg aactagaggc 840
 cctgcagttg cctgtgtcag acttgcaagg gcttgacttg cagccccag tgtccccacc 900
 ggatcaagtg gctgaagagg ccgacctagt ggctgtccct gccctgtgg ctgaggcaga 960
 20 gaccacggtg acgctgcagc agctccagga agcctggaa gaagaggttc tcaccggca 1020
 gagcctgagc cgcgagctgg aggccatccg gaccgccaac cagaacttct ccagccaact 1080
 acaggaggcc gaggtccgaa accgagacct ggaggcgcac gttcggcagc tacaggaacg 1140
 gatggagatg ctgcaggccc caggagccgc aggcgagtc ctcacctgct tccagccaag 1200
 25 ggggcaactg gtggagatgg ggggcatgtt ggggtgtgta accctcgggg caggggagga 1260
 gtccaggctg gggcaccgca gccgcgccac tgcctttctc ctccatcctc cacactccat 1320
 acacctctct cttctccttc cagccatcac ggggtcccc agtccccggg ccacggatcc 1380
 accttcccat gcttctcgcc aaatcctccc caagggaact ccctagactc ccgttctggc 1440
 ctcgactaga ttcccgcact gcctctcgcc ctgctgctgg gctccgatcg ggtcacctgt 1500
 30 cccttctctc tccagctaga tggccccccg gccgtggctg tgggccagtg cccgctggtg 1560
 gggccaggcc ccatgcaccg ccgtcacctg ctgctccctg ccaggatccc taggcctggc 1620
 ctatccgagg cgcggtgcct gctcctgttc gccgctgctc tggctgctgc cggcacactg 1680
 ggctgcatg ggttgggtgg ctataccggc ggtctcacc cagtctggtg tttcccggga 1740
 gccaccttg cccctgaac cctaagactc caagccatct ttcatttagg cctcctagga 1800
 35 agatcgagcg accagggagc gacccaaagc gtctctgtgc ccatcgcccc ccccccccc 1860
 cccaccgctc cgctccacac ttctgtgagc ctgggtcccc acccagctcc gctcctgtga 1920
 tccaggcctg ccacctggcg gccggggagg gaggaacagg gctcgtgccc agcaccctg 1980
 gttcctgcag agctggtagc caccgctgct gcagcagctg ggcatcggc gaccttgctt 2040
 40 tactcagccc tgacgtggat gggctaactg ctcagctcat ccgatttcac tttttcactc 2100
 tcccagccat cagttacaag ccataagcat gagcccccta tttccaggga catcccattc 2160
 ccatagtgat ggatcagcaa gacctctgcc agcacacacg gagtcttgg cttcggacag 2220
 cctcactcct gggggttgc gcaactcctt ccccggtac acgtctgcac tctaacaacg 2280
 gagccacagc tgcactcccc cctcccccaa agcagtggtg gtatttattg atcttgttat 2340
 45 ctgactcact gacagactcc gggaccacg ttttagatgc attgagactc gacattcctc 2400

ggtatttatt gtctgtcccc acctacgacc tccactcccc acccttgcca ataaaatact 2460
 tctggtctgc ccta 2474

50 <210>799
 <211>2135
 <212>ADN
 55 <213>Mus musculus
 <400>799

60

65

ES 2 756 326 T3

5 cccggaagaa agggatgtat tagtgaaagg ggaccggcgc tggatcacac agctgcactt 60
 tgccttccag gatgagaact acctgtacct ggtcatggaa tactacgtgg gcggggacct 120
 gctaacgctg ctgagcaagt ttggggagcg gatccccgcc gagatggctc gcttctacct 180
 ggccgagatt gtcattggcca tagactccgt gcaccggctg ggctacgtgc acagggacat 240
 caaaccagat aacattctgc tggaccgatg tgggcacatt cgctggcag acttcggctc 300
 ctgcctcaaa ctgcagcctg atggaatggt gaggtcgctg gtggctgtgg gcaccccgga 360
 10 ctacctgtct cctgagattc tgcaggccgt tggtgagggg cctggggcag gcagctacgg 420
 gccagagtgt gactggtggg cactgggctg gttcgcctat gagatggtct atgggcagac 480
 ccccttctac gcggactcca cagccgagac atatgccaaag attgtgact acaggaaca 540
 cttgtcgctg ccgctggcag acacagttgt ccccaggaa gctcaggacc tcattcgtgg 600
 gctgctgtgt cctgctgaga taaggctagg tccgaggtgg gcaggtgatt tccagaaaca 660
 15 tcctttcttc tttggccttg attgggaggg tctccgagac agtgtacccc cctttacacc 720
 agacttcgag ggtgccacgg acacatgcaa tttcgatgtg gtggaggacc ggctcactgc 780
 catggagacg ctgtcagaca tgcaggaaga catgcccctt ggggtgcgcc tgcccttctg 840
 gggctactcc tactgctgca tggccttcag agctgaagag gccgacctag tggctgtccc 900
 tgcccctgtg gctgaggcag agaccacggt aacgctgcag cagctccagg aagccctgga 960
 20 agaagaggtt ctcaaccggc agagcctgag ccgcgagctg gaggccatcc ggaccgcaa 1020
 ccagaacttc tccagccaac tacaggaggc cgaggtccga aaccgagacc tggaggcgca 1080
 tgttcggcag ctacaggaac ggtggagatg gctgcaggcc ccaggagccg cagccatcac 1140
 ggggggtcccc agtccccggg ccacggatcc accttcccat atggcccccc ggccgtggct 1200
 25 gtgggcccagt gcccgctggt ggggcccaggc cccatgcacc gccgtcacct gctgctccct 1260
 gccaggatcc ctaggcctgg cctatccgag gcgcggtgcc tgctcctggt cgccgctgct 1320
 ctggctgctg ccgccacact gggctgcaact ggggttggtgg cctataccgg cggctctcacc 1380
 ccagtctggt gtttcccggg agccaccttc gccccctgaa ccctaagact ccaagccatc 1440
 tttcatttag gcctcctagg aagatcgagc gaccagggag cgacccaaag cgtctctgtg 1500
 30 cccatcgccc ccccccccc ccccaccgct ccgctccaca cttctgtgag cctgggtccc 1560
 caccagctc cgctcctgtg atccaggcct gccacctggc ggccggggag ggaggaacag 1620
 ggctcgtgcc cagcaccctt ggttctgca gagctggtag ccaccgctgc tgcagcagct 1680
 gggcattcgc cgaccttgct ttactcagcc ctgacgtgga tgggctaact gctcagctca 1740
 tccgatttca ctttttcaact ctcccagcca tcagttacaa gccataagca tgagccccct 1800
 35 atttccaggg acatcccatt cccatagtga tggatcagca agacctctgc cagcacacac 1860
 ggagtctttg gcttcggaca gcctcactgc tgggggttgc tgcaactcct tccccgtgta 1920
 cacgtctgca ctctaacaac ggagccacag ctgcactccc ccctccccca aagcagtgtg 1980
 ggtatatttatt gatcttgta tctgactcac tgacagactc cgggaccacac gttttagatg 2040
 40 cattgagact cgacattcct cggatatttat tgtctgtccc cacctacgac ctccactccc 2100
 gacccttgcg aataaaatac ttctggtctg cccta 2135

45 <210>800
 <211>2873
 <212>ADN
 <213>Homo sapiens

50 <400>800
 aggggggctg gaccaagggg tggggagaag gggaggaggc ctcgccggc cgagagaga 60
 agtggccaga gaggcccagg ggacagccag ggacaggcag acatgcagcc agggctccag 120
 ggcctggaca ggggctgcca ggccctgtga caggaggacc ccgagcccc ggcccggga 180
 ggggcccattg tgctgcctgt ccaacatgtc agccgaggtg cggctgaggc ggctccagca 240
 55 gctggtggtg gaccgggct tcctggggct ggagcccctg ctcgaccttc tcctgggctg 300
 ccaccaggag ctgggcgcct ccgaactggc ccaggacaag tacgtggccg acttcttgca 360
 gtgggcccag cccatcgtgg tgaggcttaa ggaggtccga ctgcagaggg acgacttcga 420
 gattctgaag gtgatcggac gcggggcgtt cagcgaggta gcggtagtga agatgaagca 480
 gacgggcccag gtgtatgcca tgaagatcat gaacaagtgg gacatgctga agagggcgca 540
 60 ggtgtcgtgc ttccgtgagg agagggacgt gttggtgat ggggaccggc ggtggatcac 600
 gcagctgcac ttcgccttcc aggatgagaa ctacctgtac ctggtcatgg agtattacgt 660

65

ES 2 756 326 T3

5 gggcggggac ctgctgacac tgctgagcaa gtttggggag cggattccgg ccgagatggc 720
 gcgcttctac ctggcggaga ttgtcatggc catagactcg gtgcaccggc ttggctacgt 780
 gcacagggac atcaaaccgg acaacatcct gctggaccgc tgtggccaca tccgcctggc 840
 cgacttcggc tcttgacctca agctgcgggc agatggaacg gtgcggtcgc tgggtggctgt 900
 gggcacccca gactacctgt cccccgagat cctgcaggct gtgggcgggtg ggcctgggac 960
 aggcagctac gggcccagat gtgactgggt ggcgctgggt gtattcgct atgaaatgtt 1020
 10 ctatgggcag acgcccttct acgcggattc cacggcggag acctatggca agatcgtcca 1080
 ctacaaggag cacctctctc tgccgctggt ggacgaagg gtccctgagg aggcctcgaga 1140
 cttcattcag cggttgctgt gtccccgga gacacggctg ggccgggggtg gagcaggcga 1200
 cttccggaca catcccttct tctttggcct cgactgggat ggtctccggg acagcgtgcc 1260
 cccctttaca ccggatttct aaggtgccac cgacacatgc aacttcgact tgggtggagga 1320
 15 cgggctcact gccatggaga cactgtcggg cattcgggaa ggtgcgccgc taggggtcca 1380
 cctgcctttt gtgggctact cctactcctg catggccctc agggacagtg aggtcccagg 1440
 cccacacccc atggaactgg aggcggagca gctgcttgag ccacacgtgc aagcgcgccag 1500
 cctggagccc tcggtgtccc cacaggatga aacagctgaa gtggcagttc cagcggctgt 1560
 ccctgcggca gaggctgagg ccgaggtgac gctgcgggag ctccaggaag ccctggagga 1620
 20 ggaggtgctc acccggcaga gcctgagccg ggagatggag gccatccgca cggacaacca 1680
 gaacttcgcc agtcaactac gcgaggcaga ggctcggaac cgggacctag aggcacacgt 1740
 ccggcagttg caggagcggg tggagtgtc gcagcagag ggagccacag ctgtcacggg 1800
 ggtccccagt ccccgggcca cggatccacc ttcccatatg gcccccggc cgtgtcgtgt 1860
 25 ggccagtgcc cgctggtggg gccaggcccc atgcaccgcc gccacctgct gtcacctgcc 1920
 agggtcctta ggcttggcct atcggaggcg ctttccctgc tcctgttcgc cgttgttctg 1980
 tctcgtgccg ccgccctggg ctgcattggg ttgggtggccc acgccggcca actcaccgca 2040
 gtctggcgcc gcccaggagc cgcccgcgct ccctgaacct tagaactgtc ttcgactccg 2100
 gggccccgtt ggaagactga gtgcccgggg cacggcacag aagccgcgcc caccgcctgc 2160
 30 cagttcaciaa ccgctccgag cgtgggtctc cgcccagctc cagtcctgtg atccgggccc 2220
 gccccctagc ggccggggag ggaggggccc ggtccgcggc cggcgaacgg ggctcgaagg 2280
 gtccttgtag ccgggaatgc tgctgctgct gctgctgctg ctgctgctgc tgctgctgct 2340
 gctgctgctg ctgctgctgg ggggatcaca gaccatttct ttctttcggc caggctgagg 2400
 35 ccctgacgtg gatgggcaaa ctgcaggcct ggaaggcag caagccgggc cgtccgtgtt 2460
 ccaccccca cgcaccccca cctatcgttg gttcgcaaag tgcaaagctt tcttgtgcat 2520
 gacgccctgc tctggggagc gtctggcgcg atctctgcct gcttactcgg gaaatttgc 2580
 tttgccaaac ccgcttttcc ggggatcccg cgccccctc ctacttgcg ctgctctcgg 2640
 agccccagcc ggctccgccc gcttcggcgg tttggatatt tattgacctc gtcctccgac 2700
 40 tcgctgacag gctacaggac cccaacaac ccaatccac gttttggatg cactgagacc 2760
 ccgacattcc tcggtattta ttgtctgtcc ccacctagga cccccacccc cgaccctcgc 2820
 gaataaaagg ccctccatct gcccaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 2873

45 <210>801
 <211>1509
 <212>ADN
 <21 3>Homo sapiens

50 <400>801

55

60

65

ES 2 756 326 T3

5 ccaccgcagc ggacagcgcc aagtgaagcc tcgcttcccc tccgcggcga ccagggcccg 60
agccgagagt agcagttgta gctacccgcc cagaaactag acacaatgtg cgacgaagac 120
gagaccaccg ccctcgtgtg cgacaatggc tccggcctgg tgaagccgg cttcgccggg 180
gatgacgccc ctagggccgt gttcccgtcc atcgtgggcc gccccgaca ccagggcgtc 240
atggtcggta tgggtcagaa agattcctac gtgggcgacg aggctcagag caagagaggt 300
10 atcctgacct tgaagtacct tatcgagcac ggcatcatca ccaactggga tgacatggag 360
aagatctggc accacacctt ctacaacgag cttcgcgtgg ctcccaggga gcaccccacc 420
ctgctcaccg aggccccctt caatcccaag gccaacccgc agaagatgac ccagatcatg 480
tttgagacct tcaacgtgcc cgccatgtac gtggccatcc aggccgtgct gtccctctac 540
gcctccggca ggaccaccgg catcgtgctg gactccggcg acggcgtcac ccacaacgtg 600
15 cccatztatg agggtacgc gctgccgcac gccatcatgc gcctggacct ggcgggcccg 660
gatctcaccg actacctgat gaagatcctc actgagcgtg gctactcctt cgtgaccaca 720
gctgagcgcg agatcgtgcg cgacatcaag gagaagctgt gctacgtggc cctggacttc 780
gagaacgaga tggcgacggc cgcctcctcc tcctccctgg aaaagagcta cgagctgcca 840
gacgggcagg tcatcaccat cggcaacgag cgcttccgct gcccgagac gctcttcag 900
20 ccctccttca tcggtatgga gtcggcgggc attcacgaga ccacctaaa cagcatcatg 960
aagtgtgaca tcgacatcag gaaggacctg tatgccaaaca acgtcatgtc ggggggcacc 1020
acgatgtacc ctgggatcgc tgaccgcatg cagaaagaga tcaccgcgct ggcaccaccg 1080
accatgaaga tcaagatcat cgccccgccg gagcgcaaat actcgggtgtg gatcggcggc 1140

25 tccatcctgg cctcgtgtc caccttccag cagatgtgga tcaccaagca ggagtacgac 1200
gaggccggcc cttccatcgt ccaccgcaaa tgcttctaga cactccac ctccagcacg 1260
cgacttctca ggacgacgaa tcttctcaat gggggggcgg ctgagctcca gccaccccgc 1320
30 agtcactttc tttgtaacaa cttccgttgc tgccatcgta aactgacaca gtgtttataa 1380
cgtgtacata cattaactta ttacctcatt ttgtatttt tcgaaacaaa gcctgtgga 1440
agaaaatgga aaacttgaag aagcattaaa gtcattctgt taagctgcgt aaaaaaaaaa 1500
aaaaaaaaa 1509

35 <210>802
<211>19
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>802
gcagcagcag cagcagcag 19

45 <210>803
<211>19
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>803
gcagcagcag cagcagcag 19

55 <210>804
<211>20
<212>ADN
60 <213> Secuencia artificial

<220>
<223>Oligonucleótido sintético

65 <400>804
agcagcagca gcagcagcag 20

5 <210>805
 <211>18
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>805
 gcagcagcag cagcagca 18

<210>806
 <211>19
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>806
 agcagcagcagcag gcagcagca 19

<210>807
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>807
 agcagcagca gcagca 16

35 <210>808
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>808
 ctcccgacaa gctcca 16

45 <210>809
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>809
 tcccgacaag ctcc 14

55 <210>810
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>810
 gcttgacagt gtggct 16

5 <210>811
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>811
 cttgcacgtg tggc 14

15 <210>812
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>812
 gttgtgaac tggcag 16

25 <210>813
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>813
 gttgtgaact ggca 14

35 <210>814
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

45 <400>814
 gagcggttgt gaactg 16

50 <210>815
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

55 <400>815
 agcggttgtg aact 14

60 <210>816
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>816
 gctgccttcc caggcc 16

5 <210>817
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10 <400>817
 ctgccttccc aggc 14

<210>818
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>818
 gcactttacg aaccaa 16

<210>819
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>819
 cactttgcga acca 14

35 <210>820
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>820
 gaaagcttgg cacttt 16

45 <210>821
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 < 220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>821
 aaagctttgc actt 14

55 <210>822
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>822
 cggaggacga ggtcaa 16

65

5 <210>823
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 < 223>Oligonucleótido sintético

10 <400>823
 ggaggacgag gtca 14

<210>824
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20 <400>824 agcctgtcag cgagtc 16

<210>825
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30 <400>825
 gcctgtcagc gagt 14

<210>826
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40 <400>826
 tcctgtagcc tgtcag 16

45 <210>827
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

< 400>827
 cctgtagcct gtca 14

55 <210>828
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

65 <400>828
 gaagcgagc tcact 16

5
 <210>829
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223>Oligonucleótido sintético

10
 <400>829
 aagcgaggct tcac 14

<210>830
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

15
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

20
 <400>830
 acctgcccgct ctggca 16

<210>831
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

25
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

30
 <400>831
 cctgcccgtc tggc 14

<210>832
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

35
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

40
 <400>832
 ggtcagcgat cccagg 16

45
 <210>833
 <211>14
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

50
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>833
 gtcagcgatc ccagg 14

55
 <210>834
 <211>16
 <212>ADN
 <213> Secuencia artificial

60
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético

<400>834
 atttcttcc acaggg 16

65

5
<210>835
<211>14
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223>Oligonucleótido sintético

10
<400>835
tttctcca cagg 14

15
<210>836
<211>16
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223>Oligonucleótido sintético

20
<400>836
gaatgacttt aatgct 16

25
<210>837
<211>14
<212>ADN
<213> Secuencia artificial

30
<220>
<223>Oligonucleótido sintético

<400>837
aatgacttta atgc 14

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un compuesto que comprende un oligonucleótido antisentido modificado que consta de 10 a 30 nucleósidos unidos complementarios a un no de repetición repetida de un ARN DMPK que contiene repetición CUG expandida para usar en un método de tratamiento de un animal que tiene distrofia miotónica tipo 1, en donde el oligonucleótido tiene una secuencia de nucleobase que es al menos 90% complementaria a la SEQ ID NO: 1 y/o La SEQ ID NO: 2, medida según la totalidad de dicho oligonucleótido, en donde el oligonucleótido antisentido modificado, cuando se une al ARN DMPK que contiene repetición CUG expandido, activa una ribonucleasa nuclear.
- 10 2. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el animal es un humano.
3. El compuesto para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde el compuesto reduce la miotonía en cualquiera de los músculos cuádriceps, el músculo gastrocnemio o el músculo tibial anterior.
- 15 4. El compuesto para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la secuencia de nucleobase del oligonucleótido modificado es 100% complementaria a la SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.
- 20 5. El compuesto para usar de acuerdo a la reivindicación 4, en donde el oligonucleótido modificado es un oligonucleótido monocatenario, en donde opcionalmente el oligonucleótido modificado monocatenario es un separador.
- 25 6. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde al menos un enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado es un enlace internucleosídico modificado, en donde opcionalmente cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado es un enlace internucleosídico modificado.
7. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el enlace internucleosídico modificado es un enlace internucleosídico de fosfortioato.
- 30 8. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde al menos un enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado es un enlace internucleosídico de fosfortioato y al menos un enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado es un enlace internucleosídico fosfodiéster.
- 35 9. El compuesto para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-8, en donde al menos un nucleósido del oligonucleótido modificado comprende un azúcar modificado, en donde opcionalmente al menos un azúcar modificado es un azúcar bicíclico.
- 40 10. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el azúcar bicíclico comprende un puente químico entre las posiciones 4' y 2' del azúcar, en donde el puente químico se selecciona entre: 4'-(CH₂)-O-2'; 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2'; 4'-CH(CH₃)-O-2', 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2', 4'-(CH₃)(CH₃)-O-2', 4'-H₂-N(OCH₃)-2', 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2', 4'-CH₂-N(R)-O-2', en donde R es H, C₁-C₁₂ alquilo, o un grupo protector, 4'-CH₂(H)(CH₃)-2', 4'-y CH₂-C(=CH₂)-2'.
- 45 11. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el azúcar modificado comprende un grupo 2'-O-metoxietilo.
- 50 12. El compuesto para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-11, en donde al menos un nucleósido de dicho oligonucleótido modificado comprende una nucleobase modificada, en donde opcionalmente la nucleobase modificada es una 5-metilcitosina.
13. El compuesto para uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente en donde el compuesto es un compuesto antisentido conjugado.
- 55 14. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, para su uso en un método de tratamiento de un animal que tiene distrofia miotónica de tipo 1.