SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 16-108382- -00000-0000
Fecha: 2016-04-28 10:10:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCF
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 7

REPUBLICA DE COLOMBIA

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PATENTE INVENCION

EXPEDIENTE No. _____

Contiene los documentos relativos a la solicitud de Patente de invención de:

Título: COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA INHIBIR LA EXPRESIÓN DEL GEN LECT2

Solicitante: ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC

De: CAMBRIDGE, ESTADOS UNIDOS

Apoderado: MAURICIO JARAMILLO C.

Bogotá, D.C., Abril de 2016

WF- 10228

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 16-108382- -00000-0000

Fecha: 2016-04-28 10:10:30 Dep: 2020 DIR.NUEVASCF
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 7

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	X Patente de invención X Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capitulo II

2 DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT

Solicitud Internacional No.	PCT/US2014/058624	Fecha	01.10.2014
Publicación Internacional No.	WO/2015/050990	Fecha	09.04.2015

3 TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA INHIBIR LA EXPRESIÓN DEL GEN LECT2

4 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)

C12N 15/113 (2010.01), A61K 31/713 (2006.01)

5 SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. ☐ Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
ALNYLAM PHARMACEUTICALS , INC			

6 DATOS DEL SOLICITANTE

DIRECCIÓN	300 Third Street	No. TELÉFONO	
CIUDAD	Cambridge	CORREO ELECTRÓNICO	
DEPARTAMENTO/ESTADO	Massachusetts, 02142	NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
PAÍS DE RESIDENCIA	Estados Unidos		

7 INVENTOR (ES) X Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

	APELLIDOS	NOMBRES	NACIONALIDAD
1.	FITZGERALD	Kevin	Estados Unidos
2.	SEHGAL	Alfica	Estados Unidos
3.	BETTENCOURT	Brian	Estados Unidos
4.	HINKLE	Gregory	Estados Unidos

DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:

8 DATOS INVENTOR (ES)

	PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
1.	Estados Unidos	Massachusetts, 02142,	Cambridge	300 Third Street
2.	Estados Unidos	Massachusetts, 02142,	Cambridge	300 Third Street
3.	Estados Unidos	Massachusetts, 02142,	Cambridge	300 Third Street
4.	Estados Unidos	Massachusetts, 02142,	Cambridge	300 Third Street

OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)

☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en hoja de información complementaria.

9 ☐ REPRESENTANTE LEGAL X APODERADO

APELLIDOS	NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
JARAMILLO CAMPUZANO	MAURICIO	C.C . 80.421.942 T.P . 74.555

DIRECCIÓN	Calle 67 NO. 7 – 35, oficina 1204	No. TELÉFONO	3192900 Ext. 214
CIUDAD	Bogotá D.C.	CORREO ELECTRÓNICO	dbotero@gpzlegal.com
PAÍS	Colombia	No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	

10 DECLARACIÓN(ES) DE PRIORIDAD X SI ☐ NO

(33) PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1. Estados Unidos	US	61/885,693	2013.10.02
1. Estados Unidos	US	62/035,819	2014.08.11

11 DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.

☐ SI X NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.

12 DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.

☐ SI X NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.

13 REDUCCIÓN DE TASAS

Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.

☐ SI X NO

Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.

Micro, pequeñas y medianas empresas ☐

Universidades públicas o privadas ☐

Entidades sin ánimo de lucro ☐

Si aplica, debe aportar los soportes de acuerdo a lo que se indica en el numeral 18 - Documentos que acompañan la solicitud

14 RESUMEN

La invención se refiere a composiciones de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) que tienen como diana el gen LECT2 y a métodos para utilizar tales composiciones de ARNbc con el fin de alterar (p. ej., inhibir) la expresión de LECT2.

15	FIGURA CARACTERISTICA

```
   1 aaatcaaata gctatccatg gaatattaga acttgacttg ctccatcctc ttaaactttt
  61 tgtgtctcac actaaagaaa tgagagatgc agaattctaa ggctaaatag ctaggaagta
 121 ttcattcaaa cttgaatatt cttcaaagag agtgtggggg caactctaat cagaggaaga
 181 aactaaagga agtaaaacca gatgttttcc accaaagccc tccttttggc tggtctgatt
 241 tctaccgcac tggcagggcc atgggctaat atatgtgctg gcaagtcttc caatgagatc
 301 cggacgtgtg accgccatgg ctgtggacag tactctgctc aaagaagtca gaggcctcac
 361 cagggtgtgg acatcttgtg ctctgctgga tctactgtgt acgcaccatt cactggaatg
 421 attgtgggcc aggagaaacc ttatcaaaac aagaatgcta tcaataatgg tgttcgaata
 481 tctggaagag gtttttgtgt caaaatgttc tacattaagc caattaagta taaaggtcct
 541 attaagaagg gagaaaaact tggaactcta ttgcccttgc agaaagttta tcctggcata
 601 caatcgcatg tgcacattga aaactgtgac tcgagtgacc ctactgcata cctgtaaatc
 661 gaaggccaat ggtcagatct tcaaaataaa aagtcatctt aaaaacctgg atgcataccc
 721 ttctcttcaa gaaatttgtg ttcacaaagg aaaaatgcat gaagggatgg ataccccatt
 781 ttccatgaca tgattattac acattgcatg cctgtatcaa aacatctcac gtacctcata
 841 aacatataca cctatgtacc cacaaaaatt ttttaattaa aaaaaggaaa tttgagttta
 901 aatagaaaca tgataaatgc aagaaagaaa acattttgat tttaactcat tgtcactctg
 961 atgttcatgt gaactggttg cttcgggctc tttgatctgt cacctatgga atctgagtgg
1021 ttttattttt tagatttctc agtcccaaag atctaagata aataaacaag agaactt
```

SEQ ID NO:1

FIG. 1

16	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N°	Fecha

17	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL *Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)*

18	DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD

Documentación Técnica
Solicitud Internacional en castellano

1. X Descripción — N° de folios: 308
2. X Reivindicaciones — N° Reivindicaciones: 74
3. X Dibujos y/o figuras — N° folios: 1
4. X Resumen.
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.
6. X Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.
7. ☐ Arte final 12 x 12.
8. X Anexo formato digital.

Documentación Jurídica

9. ☐ Poderes, si fuera el caso.
10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.
11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.
12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.
13. **Reducción de tasas**

Micro, pequeñas o medianas empresas

☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.

☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.

Universidades públicas o privadas

☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación

Entidades sin ánimo de lucro

☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.
☐ Hoja de información complementaria.
☐ Otros, especificar

14. X Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
15. X Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 16 - 0038869

Bogotá D.C., Abril 22 de 2016 - 13:56:41

RECIBIDO DE : GOMEZ PINZON ASEMARCAS S.A. NI 830.121.797

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	198560132	22/04/2016	2.783.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	80.000.00	80.000.00
				$80.000.00

SON: **OCHENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-****-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 16-108382- -00000-0000
Fecha: 2016-04-28 10:10:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCF
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 7

5

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 16 - 0038868

Bogotá D.C., Abril 22 de 2016 - 13:56:41

RECIBIDO DE : GOMEZ PINZON ASEMARCAS S.A. NI 830.121.797

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	198560132	22/04/2016	2.783.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
64	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	40.000.00	2.560.000.00
				$2.560.000.00

SON: **DOS MILLONES QUINIENTOS SESENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-***-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 16-108382- -00000-0000
Fecha: 2016-04-28 10:10:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCF
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 7

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	**TESTIGO DOCUMENTAL**	Folio: 6

Dependencia Jerárquica: DEL PROPIEDAD INDUSTRIAL	**Código**	2000
Dependencia Productora: GRUPO DE NUEVAS CREACIONES	**Código**	2020
Tipo de Radicación: Entrada: **X** Salida: □ Traslado: □ Convenio: □		
Radicador:		

DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA

Nombre de la Serie / Subserie:	Código:
Expediente: 16-108382-0	Solicitante / ***Quejoso / Demandante / otros.***
Prueba excluida: cd	
N°. de Pruebas excluidas: 1	
Fecha de emisión de la Prueba:	

UBICACIÓN DE LA PRUEBA EN LA SECCIÓN DE MATERIAL GRÁFICO

N°. de bloque:		Otras especificaciones:
Nº. de rodante:		
Nº. de estante:		
N°. de archivador:		
Nº. de entrepaño:		
Nº. de gaveta:		
N°. de caja:		

IMPORTANTE:

- El material gráfico ***o especial*** que se encuentra ***dentro o anexo a*** las unidades documentales o expedientes, debe extraerse y llevarse a aquella sección del archivo que se haya dispuesto para conservar documentos en distintos formatos.
- Entiéndase por material gráfico todos aquellos dibujos, croquis, mapas, planos, fotografías, ilustraciones, pictografías, códices, prensa, objetos tridimensionales, entre otros.

Observaciones:

el cd contiene 5 archivos pdf procesados y cargados en el sistema

Unidad de Conservación

- ○ Bolsa
- ○ Caja
- ○ Libro
- ○ Sobre
- ○ Tomo
- ○ Otro

Soporte Documental

- ○ CD
- ○ Disquete
- ○ DVD
- ○ Folleto
- ○ Periódico
- ○ Plano
- ○ Publicación Periódica
- ○ USB
- ○ Otro

6

67

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

LISTA DE CHEQUEO
ADMISIÓN A TRÁMITE – NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☐ Indicación que se solicita una PCT
- ☐ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado.
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 16-108382- -00000-0000

Fecha: 2016-04-28 10:10:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCF
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 7

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA INHIBIR LA EXPRESIÓN DEL GEN LECT2

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 61/885.693, presentada el 2 de octubre de 2013, y Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 62/035.819, presentada el 11 de agosto de 2014, cuyos contenidos se incorporan a la presente como referencia en su totalidad.

Listado de secuencias

La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que se ha presentado electrónicamente en formato ASCII y que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Dicha copia en ASCII, creada el 29 de septiembre de 2014, se denomina A2038-7200WO-SL.txt, y tiene un tamaño de 294.414 bytes.

Campo de la invención

La invención se refiere a la inhibición específica de la expresión del gen LECT2.

Antecedentes de la invención

La amiloidosis es un grupo de enfermedades caracterizadas por deposición de agregados proteicos fibrosos insolubles, denominados amiloides, en órganos o tejidos. Los amiloides se pueden formar a partir de proteínas mutantes o de tipo natural. Un sistema de nomenclatura para enfermedades de amiloides usa una

abreviación para la proteína que forma depósitos de amiloides, precedida por la letra “A”. De este modo, por ejemplo, ALECT2 es la abreviación para una amiloidosis que implica depósito de amiloides formados a partir de factor-2 quimiotáctico derivado de células leucocíticas (ALECT2).

La amiloidosis de LECT2 (ALECT2) es uno de los tipos de amiloidosis descubiertos más recientemente. La amiloidosis de LECT2 se ha observado en individuos con amiloidosis renal o hepática. Esta forma de amiloidosis se puede presentar con síndrome nefrótico o con implicación hepática (p. ej., hepatitis, p. ej., hepatitis crónica). Puede ser particularmente prevalente en mejicano americanos y/o individuos que son homocigotos para el alelo G que codifica valina en la posición 40 en la proteína LECT2 madura (o en la posición 58 en la proteína no procesada). Los tratamientos para la amiloidosis de LECT2 están limitados, y se necesitan nuevos tratamientos.

Sumario de la invención

La presente invención describe métodos y composiciones de ARNi para modular la expresión de un gen LECT2. En ciertas realizaciones, la expresión de un gen LECT2 se reduce o inhibe utilizando un ARNi específico para LECT2. Tal inhibición puede ser útil en el tratamiento de trastornos relacionados con la expresión de LECT2, tales

como amiloidosis, por ejemplo una amiloidosis de LECT2 (ALECT2).

Por consiguiente, en la presente se describen composiciones y métodos que producen la escisión mediada por el complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC, por sus siglas en inglés) de transcritos de ARN del gen LECT2, por ejemplo, en una célula o en un sujeto (p. ej., en un mamífero tal como un sujeto humano). También se describen composiciones y métodos para tratar un trastorno relacionado con la expresión de un gen LECT2, tal como una amiloidosis de LECT2.

En algunas realizaciones, la amiloidosis de LECT2 es una amiloidosis renal.

En algunas realizaciones, la amiloidosis de LECT2 implica deposición de amiloides en el riñón.

En algunas realizaciones, la amiloidosis de LECT2 está asociada con nefropatía (p. ej. síndrome nefrótico). En algunas realizaciones, la amiloidosis está asociada con proteinuria. En algunas realizaciones, la proteinuria está ausente.

En algunas realizaciones, la amiloidosis de LECT2 es una amiloidosis hepática. En algunas realizaciones, la amiloidosis de LECT2 implica deposición de amiloides en el hígado.

En algunas realizaciones, la amiloidosis de LECT2 está asociada con inflamación en el hígado (p. ej. hepatitis, p. ej., hepatitis crónica).

En algunas realizaciones, el sujeto es un descendiente mejicano (p. ej., un mejicano americano).

En realizaciones, el sujeto porta el alelo G del gen LECT2 que codifica valina en la posición 40 en la proteína madura (o aminoácido 58 en la proteína no procesada). En realizaciones, el sujeto es homocigoto para el alelo G (genotipo G/G). En realizaciones, la proteína LECT2 expresada en el sujeto tiene valina en la posición 40 en la proteína madura (o en el aminoácido 58 en la proteína no procesada).

En algunas realizaciones, los métodos descritos en la presente son eficaces para inhibir la deposición de amiloides (p. ej., evitando la deposición de amiloides o reduciendo la deposición de amiloides, p. ej., reduciendo el tamaño, número, o extensión de los depósitos de amiloides) o síntomas asociados con la deposición de amiloides.

Las expresiones "ARNi", "iARN", "agente de ARNi", "agente de iARN", o "molécula de ARNi", tal como se utilizan en la presente, se refieren a un agente que contiene ARN, tal como se define este término en la presente, y el cual media la escisión dirigida de un

transcrito de ARN, p. ej., mediante una vía del complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC). En una realización, un ARNi, tal como se describe en la presente, ejerce la inhibición de la expresión de LECT2 en una célula o mamífero.

Los ARNi (p. ej., ARNbc) incluidos en las composiciones que se exponen en la presente incluyen una hebra de ARN (la hebra antisentido) que tiene una región, p. ej., una región con una longitud de 30 nucleótidos o inferior, generalmente de 19-24 nucleótidos, que es sustancialmente complementaria respecto a al menos parte de un transcrito de ARNm de un gen LECT2 (p. ej., un gen LECT2 humano o de ratón) (también denominado en la presente "ARNi específico para LECT2"). En realizaciones, el transcrito de ARNm de LECT2 es un transcrito de ARNm de LECT2 humano, p. ej. SEQ ID NO: 1. En realizaciones, el transcrito de ARNm de LECT2 tiene una sustitución de A a G en la posición de nucleótido 373 de SEQ ID NO: 1. En realizaciones, el transcrito de ARNm codifica valina en la posición 40 en la proteína LECT2 madura (o aminoácido 58 en la proteína no procesada). En realizaciones, el transcrito de ARNm codifica isoleucina en la posición 40 en la proteína LECT2 madura (o aminoácido 58 en la proteína no procesada).

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) descrito en la presente comprende una hebra antisentido que tiene una

región que es sustancialmente complementaria respecto a una región de un LECT2 humano. En realizaciones, el ARNm de LECT2 humano presenta la secuencia de NM_002302.2 (SEQ ID NO:1). En realizaciones, el ARNm de LECT2 humano tiene una sustitución de A a G en la posición de nucleótido 373 de SEQ ID NO: 1.

En otras realizaciones, un ARNi engloba un ARNbc que tiene una hebra de ARN (la hebra antisentido) que tiene una región que es sustancialmente complementaria respecto a una porción de un ARNm de LECT2. En una realización, el ARNi engloba un ARNbc que tiene una hebra de ARN (la hebra antisentido) que tiene una región que es sustancialmente complementaria respecto a una porción de un ARNm de LECT2, p. ej., un ARNm de LECT2 humano (p. ej., un ARNm de LECT2 humano como el que se proporciona en NM_002302.2 (SEQ ID NO:1) o que tiene una sustitución de A a G en la posición nucleotídica 373 de SEQ ID NO:1).

En una realización, un ARNi para inhibir la expresión de un gen LECT2 incluye al menos dos secuencias que son complementarias entre sí. El ARNi incluye una hebra sentido que tiene una primera secuencia y una hebra antisentido que tiene una segunda secuencia. La hebra antisentido incluye una secuencia de nucleótidos que es sustancialmente complementaria respecto a al menos parte de un ARNm que codifica un transcrito de LECT2, y la región de

complementariedad tiene una longitud de 30 nucleótidos o inferior, y de al menos 15 nucleótidos. Generalmente, el ARNi tiene una longitud de 19-24 nucleótidos.

En algunas realizaciones, el ARNi tiene una longitud de 19-21 nucleótidos. En algunas realizaciones, el ARNi tiene una longitud de 19-21 nucleótidos y se encuentra en una formulación lipídica, p. ej., una formulación de nanopartículas lipídicas (LNP, por sus siglas en inglés) (p. ej., una formulación LNP11). En una realización, el ARNi que tiene LECT2 como diana se formula en una partícula lipídica de ácido nucleico estable (SNALP, por sus siglas en inglés).

En algunas realizaciones, el ARNi tiene una longitud de 21-23 nucleótidos. En algunas realizaciones, el ARNi tiene una longitud de 21-23 nucleótidos y se encuentra en forma de conjugado, p. ej., conjugado con uno o más derivados de tipo GalNAc según se describe en la presente.

En algunas realizaciones, el ARNi tiene una longitud comprendida entre aproximadamente 15 y aproximadamente 25 nucleótidos, y en otras realizaciones el ARNi tiene una longitud comprendida entre aproximadamente 25 y aproximadamente 30 nucleótidos. Un ARNi que tenga LECT2 como diana, cuando entra en contacto con una célula que expresa LECT2, inhibe la expresión de un gen LECT2 (p. ej., en al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 25%, al

menos un 30%, al menos un 35% o al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70% o al menos un 80%), como se evalúa utilizando un método conocido en la técnica o como el que se describe en la presente.

En una realización, un ARNi (p. ej., un ARNbc) que se expone en la presente comprende o consiste en una primera secuencia de un ARNbc que se selecciona a partir del grupo constituido por las secuencias sentido de las Tablas 2-3, 5-6, 9-10 y una segunda secuencia que se selecciona a partir del grupo constituido por las secuencias antisentido correspondientes de las Tablas 2-3, 5-6, y 9-10.

En realizaciones, un ARNi (p. ej., ARNbc) que se expone en la presente comprende o consiste en una secuencia sentido y/o antisentido seleccionada de las proporcionadas en la Tabla 2-3, 5-6 y 9-10.

Las moléculas de ARNi que se exponen en la presente pueden incluir nucleótidos de origen natural o pueden incluir al menos un nucleótido modificado, que incluye, sin carácter limitante, un nucleótido con una modificación de tipo 2'-O-metilo, un nucleótido con un grupo 5'-fosforotioato y un nucleótido terminal unido a un derivado de tipo colesterilo. Como alternativa, el nucleótido modificado se puede seleccionar a partir del grupo constituido por: un nucleótido con una modificación de tipo 2'-desoxi-2'-fluoro, un nucleótido con una modificación de

tipo 2'-desoxi, un nucleótido bloqueado, un nucleótido acíclico, un nucleótido que no sea básico, un nucleótido con una modificación de tipo 2’-amino, un nucleótido con una modificación de tipo 2’-alquilo, un nucleótido de tipo morfolino, un fosforamidato y un nucleótido que comprende una base que no sea natural. Una secuencia modificada de este tipo se puede basar, p. ej., en una primera secuencia de dicho ARNi seleccionada a partir del grupo constituido por las secuencias sentido de las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10, y una segunda secuencia seleccionada a partir del grupo constituido por las secuencias antisentido correspondientes de la Tabla 2-3, 5-6 y 9-10.

En una realización, un ARNi según se describe en la presente tiene como diana una variante de un transcrito de ARN de LECT2 de origen natural y, en otra realización, el ARNi tiene como diana un transcrito mutante (p. ej., un ARN de LECT2 que porta de una variante alélica). Por ejemplo, un ARNi que se expone en la invención puede tener como diana una variante polimórfica tal como un polimorfismo de un único nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) de LECT2.

En algunas realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) selecciona como diana (p. ej., reduce) ARNm que codifica valina en la posición 40 en la proteína LECT2 madura (o aminoácido 58 en la proteína no procesada). En algunas

realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) selecciona como diana (p. ej., reduce) ARNm que codifica isoleucina en la posición 40 en la proteína LECT2 madura (o aminoácido 58 en la proteína no procesada). En otra realización, el ARNi (p. ej., ARNbc) selecciona como diana (p. ej., reduce) tanto ARNm que codifica valina como ARNm que codifica isoleucina en la posición 40 en la proteína LECT2 madura (o aminoácido 58 en la proteína no procesada).

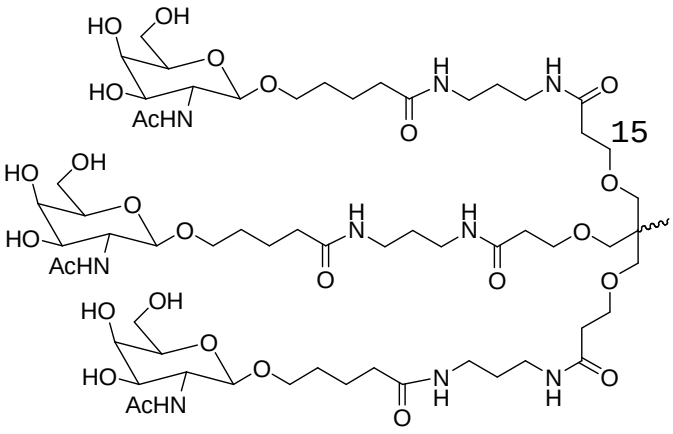
En otra realización, el ARNi selecciona como diana tanto un transcrito de LECT2 de tipo natural como mutante. En todavía otra realización, el ARNi selecciona como diana una variante de transcrito particular de LECT2. En aún otra realización, el agente de ARNi selecciona como diana múltiples variantes del transcrito.

En una realización, un ARNi que se expone en la invención tiene como diana una región no codificante de un transcrito de ARN de LECT2 tal como la región no traducida 5′ o 3′ de un transcrito.

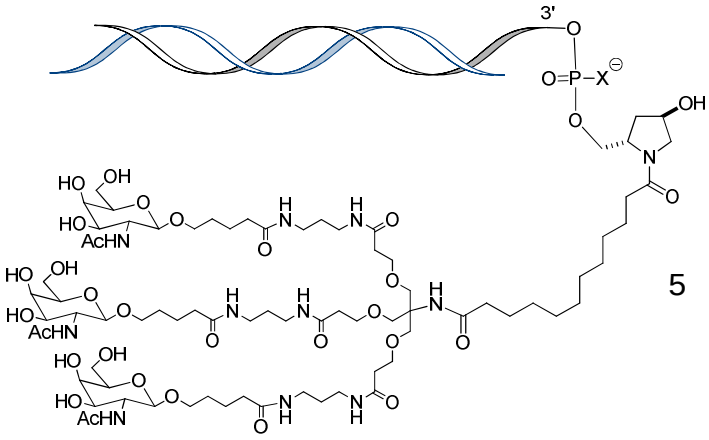
En algunas realizaciones, un ARNi según se describe en la presente se encuentra en forma de conjugado, p. ej., un conjugado con un carbohidrato, el cual puede actuar como un resto y/o ligando de direccionamiento, según se describe en la presente. En una realización, el conjugado está unido al extremo 3′ de la hebra sentido del ARNbc. En algunas realizaciones, el conjugado está unido mediante un

conector, p. ej., mediante un conector ramificado bivalente o trivalente.

En algunas realizaciones, el conjugado comprende uno o más derivados de tipo *N*-acetilgalactosamina (GalNAc). Tal conjugado también se denomina en la presente conjugado de tipo GalNAc. En algunas realizaciones, el conjugado dirige el agente de iARN (p. ej., ARNbc) hacia una célula particular, p. ej., una célula hepática, p. ej., un hepatocito. Los derivados de tipo GalNAc se pueden unir mediante un conector, p. ej., un conector ramificado bivalente o trivalente. En realizaciones particulares, el conjugado es.

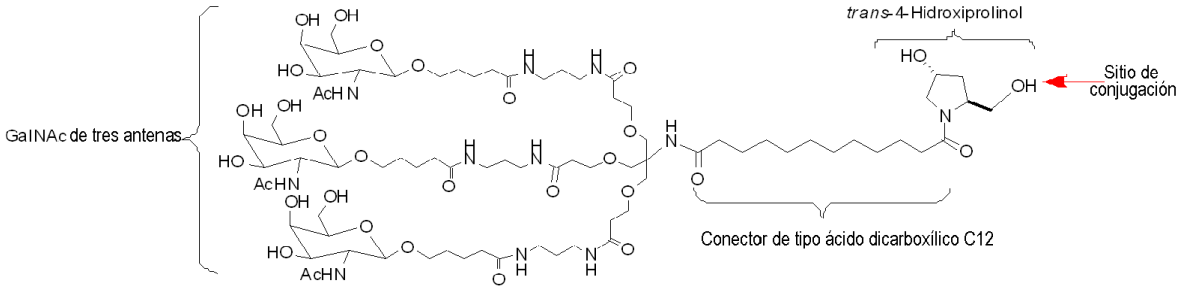


En algunas realizaciones, el agente de iARN está unido al conjugado de tipo carbohidrato mediante un conector, p. ej., un conector como el que se muestra en la siguiente representación esquemática, donde X es O o S



En algunas realizaciones, X es O. En algunas realizaciones, X es S.

En algunas realizaciones, el agente de iARN se conjuga a L96 según se define en la Tabla 1 y se muestra a continuación.



En algunas realizaciones, el agente de iARN se conjuga a un ligando que selecciona como diana el iARN (p. ej., ARNbc) hacia un órgano deseado (p. ej., el hígado) o hacia un tipo de célula particular (p. ej., hepatocitos). En realizaciones, el agente de iARN se conjuga a un ligando (p. ej., un ligando de GalNAc, p. ej., L96) que selecciona

como diana el agente de iARN (p. ej., ARNbc) hacia el hígado.

En un aspecto, se proporciona en la presente una composición farmacéutica para inhibir la expresión de un gen LECT2 en un organismo, generalmente un sujeto humano. La composición incluye normalmente uno o más de los ARNi descritos en la presente y un portador o vehículo de suministro farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición se utiliza para tratar un trastorno relacionado con la expresión de LECT2, p. ej. amiloidosis, p. ej. amiloidosis de LECT2.

En un aspecto, un ARNi proporcionado en la presente es un ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de LECT2, donde dicho ARNbc comprende una hebra sentido y una hebra antisentido con una longitud de 15-30 pares de bases y la hebra antisentido es complementaria respecto a al menos 15 nucleótidos contiguos de la SEQ ID NO: 1.

En un aspecto adicional, un ARNi proporcionado en la presente es un ARNi bicatenario (ARNbc) que comprende una hebra sentido complementaria respecto a una hebra antisentido, donde dicha hebra antisentido comprende una región de complementariedad respecto a un transcrito de ARN de LECT2, donde cada hebra tiene de aproximadamente 14 a

aproximadamente 30 nucleótidos, donde dicho agente de iARN bicatenario se representa mediante la fórmula (III):

sentido: 5' n_p -N_a -(X X X)$_i$-N_b -Y Y Y -N_b -(Z Z Z)$_j$ -N_a - n_q 3'

antisentido: 3' n_p'-N_a'-(X'X'X')$_k$-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'(Z'Z'Z')$_l$-N_a'- n_q' 5'

(III)

donde:

i, j, k, y l son cada uno independientemente 0 o 1;

p, p', q y q' son cada uno independientemente 0-6;

cada N_a y N_a' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-25 nucleótidos, los cuales están modificados o no modificados, o combinaciones de estos, comprendiendo cada secuencia al menos dos nucleótidos modificados de forma diferente;

cada N_b y N_b' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10 nucleótidos, los cuales están modificados o no modificados, o combinaciones de estos;

cada n_p, n_p', n_q y n_q' representa independientemente un nucleótido protuberante;

XXX, YYY, ZZZ, X′X′X′, Y′Y′Y′ y Z′Z′Z′ representan cada uno independientemente un motivo de tres modificaciones idénticas en tres nucleótidos consecutivos;

las modificaciones en N_b difieren de la modificación en Y y las modificaciones en N_b′ difieren de la modificación en Y′.

En algunas realizaciones, la hebra sentido está conjugada con al menos un ligando.

En algunas realizaciones, i es 1; j es 1; o tanto i como j son 1.

En algunas realizaciones, k es 1; l es 1; o tanto k como l son 1.

En algunas realizaciones, XXX es complementario respecto a X′X′X′, YYY es complementario respecto a Y′Y′Y′ y ZZZ es complementario respecto a Z′Z′Z′.

En algunas realizaciones, el motivo Y′Y′Y′ se encuentra en las posiciones 11, 12 y 13 de la hebra antisentido del extremo 5'.

En algunas realizaciones, Y′ es 2′-O-metilo.

En algunas realizaciones, la región dúplex tiene una longitud de 15-30 pares de nucleótidos.

En algunas realizaciones, la región dúplex tiene una longitud de 17-23 pares de nucleótidos.

En algunas realizaciones, la región dúplex tiene una longitud de 19-21 pares de nucleótidos.

En algunas realizaciones, la región dúplex tiene una longitud de 21-23 pares de nucleótidos.

En algunas realizaciones, las modificaciones de los nucleótidos se seleccionan a partir del grupo que consiste en un ácido nucleico bloqueado (LNA), un nucleótido acíclico, un ácido nucleico de hexitol o de hexosa (-HNA), un ácido nucleico de ciclohexeno (-CeNA), 2′-metoxietilo, 2′-O-alquilo, 2′-O-alilo, 2′-C-alilo, 2′-fluoro, 2′-desoxi, 2′-hidroxilo y cualquier combinación de estas.

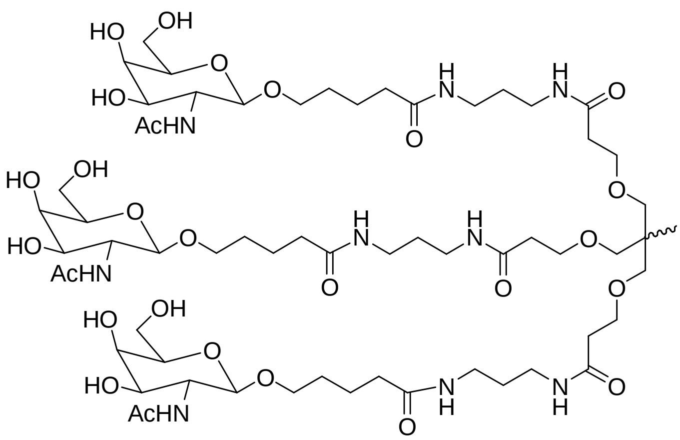
En algunas realizaciones, las modificaciones de los nucleótidos son 2′-O-metilo, 2′-fluoro o ambas.

En algunas realizaciones, el ligando comprende un carbohidrato.

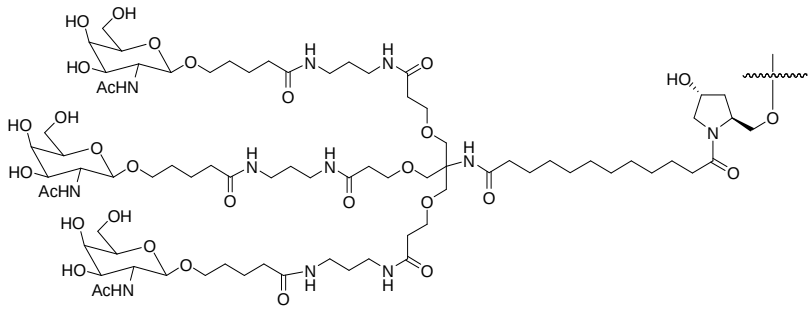
En algunas realizaciones, el ligando está unido mediante un conector.

En algunas realizaciones, el conector es un conector ramificado bivalente o trivalente.

En algunas realizaciones, el ligando es.



En algunas realizaciones, el ligando y el conector son como se muestran en la Fórmula XXIV:



En algunas realizaciones, el ligando está unido al extremo 3’ de la hebra sentido.

En algunas realizaciones, el ARNbc tiene (p. ej., comprende) una secuencia de nucleótidos (p. ej., una secuencia sentido y/o antisentido) seleccionada a partir del grupo de secuencias proporcionadas en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10.

En un aspecto adicional, un ARNi proporcionado en la presente es un ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de LECT2, donde dicho ARNbc comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, comprendiendo la hebra antisentido una región de complementariedad respecto a un transcrito de ARN de LECT2, donde la hebra antisentido comprende al menos 15 nucleótidos contiguos que no difieren en más de 3 nucleótidos de una de las secuencias

antisentido enumeradas en cualquiera de las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10.

En algunas realizaciones, el ARNbc comprende al menos un nucleótido modificado.

En algunas realizaciones, al menos uno de los nucleótidos modificados se selecciona a partir del grupo constituido por: un nucleótido con una modificación de tipo 2'-O-metilo, un nucleótido que comprende un grupo 5'-fosforotioato y un nucleótido terminal unido a un derivado de tipo colesterilo o un grupo de tipo bisdecilamida del ácido dodecanoico.

En algunas realizaciones, el nucleótido modificado se selecciona a partir del grupo constituido por: un nucleótido con una modificación de tipo 2'-desoxi-2'-fluoro, un nucleótido con una modificación de tipo 2'-desoxi, un nucleótido bloqueado, un nucleótido acíclico, un nucleótido que no sea básico, un nucleótido con una modificación de tipo 2’-amino, un nucleótido con una modificación de tipo 2’-alquilo, un nucleótido de tipo morfolino, un fosforamidato y un nucleótido que comprende una base que no sea natural.

En algunas realizaciones, la región de complementariedad tiene una longitud de al menos 17 nucleótidos.

En algunas realizaciones, la región de complementariedad tiene una longitud comprendida entre 19 y 21 nucleótidos.

En algunas realizaciones, la región de complementariedad tiene una longitud de 19 nucleótidos.

En algunas realizaciones, cada hebra tiene una longitud que no es superior a 30 nucleótidos.

En algunas realizaciones, al menos una hebra comprende una protuberancia 3’ de al menos 1 nucleótido.

En algunas realizaciones, al menos una hebra comprende una protuberancia 3’ de al menos 2 nucleótidos.

En algunas realizaciones, un ARNi (p. ej., un ARNbc) descrito en la presente comprende además un ligando.

En algunas realizaciones, el ligando es un ligando de tipo GalNAc.

En algunas realizaciones, el ligando dirige el ARNi (p. ej., un ARNbc) hacia el hígado (p. ej. a los hepatocitos).

En algunas realizaciones, el ligando está conjugado con el extremo 3’ de la hebra sentido del ARNbc.

En algunas realizaciones, la región de complementariedad está constituida por una secuencia antisentido seleccionada a partir de las secuencias antisentido proporcionadas en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10.

En realizaciones, la región de complementariedad consiste en una secuencia antisentido seleccionada de un dúplex descrito en la presente, donde el dúplex suprime la expresión de ARNm de LECT2 o de una proteína en al menos 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85% o 90%.

En algunas realizaciones, el ARNbc comprende una hebra sentido que comprende o que consiste en una secuencia de hebra sentido seleccionada a partir de la Tabla 2, 3, 5, 6, 9 o 10, y una hebra antisentido que comprende o que consiste en una secuencia antisentido seleccionada a partir de la Tabla 2, 3, 5, 6, 9 o 10. En algunas realizaciones, el ARNbc comprende o consiste en un par de secuencias sentido y antisentido correspondientes seleccionadas a partir de las de los dúplex descritos en las Tablas 2-3 y 5-11.

En ciertas realizaciones, el ARNbc comprende o consiste en un par de secuencias sentido y antisentido correspondientes seleccionadas a partir de las de los dúplex descritos en la Tabla 8.

En un aspecto, la invención proporciona una célula que contiene al menos un ARNi (p. ej., ARNbc) descrito en la presente. La célula típicamente una célula de mamífero tal como una célula humana. En realizaciones, la célula es una célula hepática (p. ej., un hepatocito).

En un aspecto, se proporciona en la presente una composición farmacéutica para inhibir la expresión de un gen LECT2, comprendiendo la composición un ARNi (p. ej., ARNbc) descrito en la presente.

En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente, el ARNi (p. ej., ARNbc) se administra en una solución no tamponada. En algunas realizaciones, la solución no tamponada es solución salina o agua.

En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente, el ARNi (p. ej., ARNbc) se administra con una solución tampón. En algunas realizaciones, la solución tapón comprende acetato, citrato, prolamina, carbonato o fosfato o cualquier combinación de estos. En algunas realizaciones, la solución tampón es una solución salina tamponada con fosfato (PBS).

En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente, el ARNi (p. ej., ARNbc) se dirige hacia el hígado (p. ej., hacia los hepatocitos).

En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente, la composición se administra por vía intravenosa.

En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente, la composición se administra por vía subcutánea.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende un ARNi (p. ej., ARNbc) descrito en la presente que comprende un ligando (p. ej., un ligando de tipo GalNAc) que dirige el ARNi (p. ej., ARNbc) hacia una célula hepática, p. ej., un hepatocito.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende un ARNi (p. ej., ARNbc) descrito en la presente que comprende un ligando (p. ej., un ligando de tipo GalNAc) y la composición farmacéutica se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el ligando dirige el ARNi (p. ej., ARNbc) hacia una célula hepática, p. ej., un hepatocito.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica, p. ej., una composición descrita en la presente, incluye una formulación lipídica. En algunas realizaciones, el agente de iARN es una formulación LNP, p. ej., una formulación MC3. En algunas realizaciones, la formulación LNP dirige el agente de iARN hacia una célula particular, p. ej., una célula hepática (p. ej., un hepatocito). En algunas realizaciones, la formulación lipídica es una formulación LNP11. En algunas

realizaciones, la composición se administra por vía intravenosa.

En otra realización, la composición farmacéutica se formula para ser administrada de acuerdo con una pauta posológica descrita en la presente, p. ej., no más de una vez cada cuatro semanas, no más de una vez cada tres semanas, no más de una vez cada dos semanas o no más de una vez por semana. En otra realización, la administración de la composición farmacéutica se puede mantener durante un mes o más, p. ej., uno, dos, tres o seis meses, o un año o más.

En otra realización, una composición que contiene un ARNi que se expone en la invención, p. ej., un ARNbc que tiene LECT2 como diana, se administra junto con una segunda terapia para un trastorno relacionado con la expresión de LECT2 (p. ej., amiloidosis de LECT2). Un ARNi o una composición que comprende un ARNi proporcionados aquí se puede administrar antes, después o de forma simultánea con una segunda terapia. En realizaciones, el ARNi se administra antes de la segunda terapia. En realizaciones, el ARNi se administra tras la segunda terapia. En realizaciones, el ARNi se administra concurrentemente con la segunda terapia.

En algunas realizaciones, la segunda terapia es un agente terapéutico que no sea un ARNi que es eficaz para tratar el trastorno o síntomas del trastorno.

En algunas realizaciones, el trastorno a tratar con las composiciones o métodos descritos en la presente es una amiloidosis de LECT2 que afecta a la función renal, p. ej., a través de la deposición de amiloides en el riñón. En algunas de tales realizaciones, el ARNi se administra conjuntamente con una terapia que respalda la función renal (p. ej., diálisis). En realizaciones, el ARNi se administra conjuntamente con un diurético, un inhibidor de ACE (enzima conversora de angiotensina), un bloqueador del receptor de angiotensina, y/o diálisis, p. ej., para respaldar o manejar la función renal.

En algunas realizaciones, el trastorno a tratar con las composiciones o métodos descritos en la presente es una amiloidosis de LECT2 que implica depósitos de amiloides en el hígado. En algunas de tales realizaciones, el ARNi se administra conjuntamente con una terapia que respalda la función hepática.

En algunas realizaciones, el trastorno a tratar por las composiciones o métodos descritos en la presente es una amiloidosis de LECT2, y el ARNi se administra conjuntamente con la eliminación de todo o todos o parte del órgano u órganos afectados por la amiloidosis (p. ej., resección de

todo o parte del tejido renal o hepático afectado por la amiloidosis). La eliminación se lleva a cabo opcionalmente conjuntamente con una sustitución de todo o parte del órgano eliminado (p. ej., conjuntamente con un transplante de órgano de riñón o de hígado).

En un aspecto, se proporciona en la presente un método para inhibir la expresión de LECT2 en una célula, comprendiendo el método: (a) introducir en la célula un ARNi (p. ej., un ARNbc) descrito en la presente y (b) mantener la célula del paso (a) durante un tiempo suficiente para obtener la degradación del transcrito de ARNm del gen LECT2, de este modo se inhibe la expresión del gen LECT2 en la célula.

En un aspecto, se proporciona en la presente un método para reducir o inhibir la expresión de un gen LECT2 en una célula (p. ej., una célula hepática, p. ej., un hepatocito). El método incluye poner en contacto la célula con un ARNbc como se describe en la presente, inhibiendo de ese modo la expresión de un gen LECT2. “Poner en contacto”, como se usa en la presente, incluye poner en contacto directamente una célula así como poner en contacto indirectamente una célula. Por ejemplo, una célula en un sujeto (p. ej., una célula del hígado) se puede poner en contacto cuando se administra (p. ej., intravenosa o

subcutáneamente) una composición que comprende un iARN al sujeto.

En realizaciones, el método incluye:

(a) introducir en la célula un ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc), donde el ARNbc incluye al menos dos secuencias que son complementarias entre sí. El ARNbc tiene una hebra sentido que tiene una primera secuencia y una hebra antisentido que tiene una segunda secuencia; la hebra antisentido tiene una región de complementariedad que es sustancialmente complementaria respecto a al menos una parte de un ARNm que codifica LECT2, y donde la región de complementariedad tiene una longitud de 30 nucleótidos o inferior, p. ej., 15-30 nucleótidos, y generalmente tiene una longitud de 19-24 nucleótidos, y donde el ARNbc, cuando entra en contacto con una célula que expresa LECT2, inhibe la expresión del gen LECT2 al menos un 10%, p. ej., al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40% o más; y

(b) mantener la célula del paso (a) durante un tiempo suficiente para obtener la degradación del transcrito de ARNm del gen LECT2, reduciendo o inhibiendo de este modo la expresión de un gen LECT2 en la célula.

En algunas realizaciones de los métodos anteriores para inhibir la expresión de LECT2 en una célula, la célula

se trata *ex vivo*, *in vitro* o *in vivo*. En algunas realizaciones, la célula es un hepatocito.

En algunas realizaciones, la célula está presente en un sujeto que necesita tratar, prevenir y/o gestionar un trastorno relacionado con la expresión de LECT2.

En algunas realizaciones, el trastorno es una amoliodosis de LECT2 como se describe en la presente.

En algunas realizaciones, la expresión de LECT2 se inhibe al menos un 30%.

En algunas realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) presenta una CI_{50} comprendida en el intervalo de 0.0005-1 nM, p. ej. entre 0.001 y 0.2 nM, entre 0.002 y 0.1 nM, entre 0.005 y 0.075 nM, o entre 0.01 y 0.05 nM.

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) tiene una CI_{50} igual o menor que 0.02 nM, p. ej., entre 0.0005 y 0.02 nM, entre 0.001 y 0.02 nM, entre 0.005 y 0.02 nM, o entre 0.01 y 0.02 nM. En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) tiene una CI_{50} en el intervalo de 0.01-1 nM.

En ciertas realizaciones, la célula (p. ej., el hepatocito) es una célula de mamífero (p. ej., una célula humana, de primate no humano o de roedor).

En una realización, el sujeto es un mamífero (p. ej., un ser humano) que tiene una amiloidosis de LECT2.

En una realización, el ARNbc introducido reduce o inhibe la expresión de un gen LECT2 en la célula.

En una realización, el ARNbc inhibe la expresión de un gen LECT2, o inhibe la deposición de amiloides (p. ej., evitando la deposición de amiloides o reduciendo la deposición de amiloides, p. ej., reduciendo el tamaño, número o extensión de los depósitos de amiloides). La inhibición implica opcionalmente una inhibición de al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% o más en comparación con una referencia (p. ej., un control que no está tratado o que está tratado con un ARNbc que no selecciona ninguna diana (p. ej., un ARNbc que no selecciona como diana a LECT2)).

En otros aspectos, la descripción proporciona métodos para tratar procesos patológicos relacionados con la expresión de LECT2 (p. ej., deposición de amiloide). En una realización, el método incluye administrar a un sujeto, p. ej., un paciente que necesite tal tratamiento, una cantidad eficaz (p. ej., terapéutica o profilácticamente eficaz) de un ARNbc proporcionado en la presente.

En un aspecto, se proporciona en la presente un método para tratar y/o prevenir un trastorno relacionado con la expresión de LECT2 (p. ej., una amiloidosis de LECT2) que comprende administrar a un sujeto que necesite tal tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un ARNi (p. ej., un ARNbc) descrito en la presente o una

composición que comprenda un ARNi (p. ej., un ARNbc) descrito en la presente.

En un aspecto, se proporciona en la presente un método para tratar un trastorno relacionado con la expresión de LECT2 (p. ej., una amiloidosis de LECT2) que comprende administrar a un sujeto que necesite tal tratamiento un ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc), donde dicho ARNbc comprende una hebra sentido y una hebra antisentido con una longitud de 15-30 pares de bases y la hebra antisentido es complementaria respecto a al menos 15 nucleótidos contiguos de un transcrito de ARNm de LECT2, p. ej., un transcrito de ARNm de LECT2 humano, p. ej., SEQ ID NO: 1 o una secuencia de nucleótido que tiene una sustitución de A a G en la posición del nucleótido 373 de SEQ ID NO: 1. En una realización, el ARNi (p. ej., ARNbc) selecciona como diana a ARNm que codifica valina en la posición 40 en la proteína LECT2 madura (o aminoácido 58 en la proteína no procesada).

En una realización, se proporciona en la presente un método para tratar a un sujeto que tiene una amiloidosis de LECT2, comprendiendo el método administrar al sujeto un ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc), donde dicho ARNbc comprende una hebra sentido y una hebra antisentido con una longitud de 15-30 pares de bases y la hebra antisentido es complementaria respecto a al menos 15 nucleótidos contiguos de un transcrito de ARNm de LECT2, p. ej., un transcrito de

ARNm de LECT2 humano, p. ej., SEQ ID NO: 1 o una secuencia de nucleótido que tiene una sustitución de A a G en la posición del nucleótido 373 de SEQ ID NO: 1. En una realización, el ARNi (p. ej., ARNbc) selecciona como diana a ARNm que codifica valina en la posición 40 en la proteína LECT2 madura (o aminoácido 58 en la proteína no procesada).

En algunas realizaciones, la administración del ARNi que selecciona como diana LECT2 alivia o aminora la gravedad de al menos un síntoma de un trastorno relacionado con la expresión de LECT2 en el paciente.

En una realización, el sujeto tiene una amiloidosis de LECT2. En otra realización, el sujeto tiene riesgo de desarrollar una amiloidosis de LECT2.

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) se formula como una formulación de LNP.

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) está en forma de un conjugado de GalNAc.

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) se administra a una dosis de 0.05-50 mg/kg.

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) se administra a una concentración de 0.01 mg/kg-5 mg/kg de peso corporal del sujeto.

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) se formula como una formulación de LNP y se administra a una dosis de 0.05-5 mg/kg. En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) se

formula como una formulación de LNP y se administra a una dosis de 0.1 a 0.5 mg/kg.

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) está en forma de un conjugado de GalNAc y se administra a una dosis de 0.5-50 mg/kg. En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) está en forma de un conjugado de GalNAc y se administra a una dosis de 1 a 10 mg/kg.

En realizaciones, el método inhibe la expresión de un gen LECT2, o inhibe la deposición de amiloides (p. ej., evitando la deposición de amiloides o reduciendo la deposición de amiloides, p. ej., reduciendo el tamaño, número, o extensión de los depósitos de amiloides). La inhibición implica opcionalmente una inhibición de al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90% en comparación con una referencia (p. ej., un control que no está tratado o que está tratado con un ARNbc que no selecciona ninguna diana (p. ej., un ARNbc que no selecciona como diana a LECT2)).

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) tiene una CI_{50} en el intervalo de 0.0005-1 nM, p. ej., entre 0.001 y 0.2 nM, entre 0.002 y 0.1 nM, entre 0.005 y 0.075 nM, o entre 0.01 y 0.05 nM. En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) tiene una CI_{50} igual o menor que 0.02 nM, p. ej., entre 0.0005 y 0.02 nM, entre 0.001 y 0.02 nM, entre 0.005 y 0.02 nM, o entre 0.01 y 0.02 nM. En realizaciones, el

ARNi (p. ej., ARNbc) tiene una CI_{50} en el intervalo de 0.01-1 nM.

En realizaciones, un método descrito en la presente mejora un síntoma asociado con un trastorno relacionado con LECT2 (p. ej., una amiloidosis de LECT2).

En realizaciones, un método descrito en la presente inhibe la expresión de un gen LECT2 en el sujeto.

En realizaciones, un método descrito en la presente inhibe la deposición de amiloides (p. ej., evitando la deposición de amiloides o reduciendo la deposición de amiloides, p. ej., reduciendo el tamaño, número o extensión de los depósitos de amiloides).

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) o composición que comprende el ARNi se administra según un régimen de dosificación.

En realizaciones, el sujeto es de descendencia mejicana (p. ej., un mejicano americano).

En realizaciones, el sujeto porta el alelo G del gen LECT2 que codifica valina en la posición 40 en la proteína madura (aminoácido 58 en la proteína no procesada). En realizaciones, el sujeto es homocigoto para el alelo G (genotipo G/G).

En realizaciones, una proteína LECT2 expresada en el sujeto tiene valina en la posición 40 en la proteína madura (o en el aminoácido 58 en la proteína no procesada).

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) o composición que comprende el ARNi se administra repetidamente, p. ej., según un régimen de dosificación.

En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) o composición que comprende el ARNi se administra subcutáneamente.

En realizaciones, el ARNi está en forma de un conjugado de GalNAc. En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) se administra a una dosis de 0.5-50 mg/kg. En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) está en forma de un conjugado de GalNAc y se administra a una dosis de 1 a 10 mg/kg.

En un aspecto, se proporciona en la presente un vector que codifica al menos una hebra de un ARNi (p. ej., un ARNbc) según se describe en la presente.

En un aspecto, se proporciona en la presente un vector que codifica al menos una hebra de un ARNbc, donde dicho ARNbc comprende una región de complementariedad respecto a al menos una parte de un ARNm que codifica LECT2, donde dicho ARNbc tiene una longitud de 30 pares de bases o inferior y donde dicho ARNbc tiene como diana la escisión de dicho ARNm.

En algunas realizaciones, la región de complementariedad tiene una longitud de al menos 15 nucleótidos.

En algunas realizaciones, la región de complementariedad tiene una longitud de 19-21 nucleótidos. En un aspecto, se proporciona un vector para inhibir la expresión de un gen LECT2 en una célula. En una realización, el vector comprende un ARNi según se describe en la presente. En una realización, el vector incluye al menos una secuencia reguladora unida operablemente a una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una hebra de un ARNi según se describe en la presente. En una realización, el vector comprende al menos una hebra de un ARNi de LECT2.

En un aspecto, se proporciona en la presente una célula que comprende un vector según se describe en la presente. En un aspecto, se proporciona en la presente una célula que contiene un vector para inhibir la expresión de un gen LECT2 en una célula. El vector incluye una secuencia reguladora unida operablemente a una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una hebra de un ARNi descrito en la presente.

Todas las publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en la presente se incorporan por referencia en su totalidad.

En la descripción a continuación se exponen los detalles de varias realizaciones de la invención. Otras características, objetos y ventajas de la invención serán

evidentes a partir de la descripción y los dibujos, y a partir de las reivindicaciones.

Descripción de los dibujos

La FIG. 1 representa una secuencia de transcrito de ARNm de LECT2 humano (Ref. Seq. NM_002302.2 GI:59806344, registro fechado el 17 de abril de 2013; SEQ ID NO: 1).

Descripción detallada de la invención

El ARNi dirige la degradación de ARNm específica según la secuencia mediante un proceso conocido como interferencia por ARN (iARN). En la presente se describen ARNi y métodos para utilizarlos con el fin de modular (p. ej., inhibir) la expresión de un gen LECT2. También se proporcionan composiciones y métodos para el tratamiento de trastornos relacionados con la expresión de LECT2, tales como amiloidosis (p. ej., amiloidosis de LECT2).

Los ARNi de las composiciones que se exponen en la presente incluyen una hebra de ARN (la hebra antisentido) que tiene una región con una longitud de 30 nucleótidos o inferior, es decir, una longitud de 15-30 nucleótidos, generalmente una longitud de 19-24 nucleótidos, donde dicha región es sustancialmente complementaria respecto a al menos parte de un transcrito de ARNm de un gen LECT2 (también se denomina en la presente "ARNi específico para LECT2"). El uso de un ARNi de este tipo permite la degradación dirigida de los ARNm de genes que participan en

trastornos relacionados con la expresión de LECT2 como se describe en la presente. Unas dosis muy bajas de ARNi específicos para LECT2 pueden mediar de forma específica y eficaz la iARN, lo cual provoca una inhibición significativa de la expresión de un gen LECT2. Los ARNi que tienen como diana LECT2 pueden mediar de forma específica y eficaz la iARN, lo cual provoca una inhibición significativa de la expresión de un gen LECT2, que se puede evaluar, p. ej., en ensayos basados en células.

La siguiente descripción describe cómo preparar y utilizar composiciones que contienen ARNi para modular (p. ej., inhibir) la expresión de un gen LECT2, así como también composiciones y métodos para tratar trastornos relacionados con la expresión de un gen LECT2. Las realizaciones de las composiciones farmacéuticas que se exponen en la presente incluyen un ARNi que tiene una hebra antisentido que comprende una región con una longitud de 30 nucleótidos o inferior, generalmente una longitud de 19-24 nucleótidos, donde dicha región es sustancialmente complementaria respecto a al menos parte de un transcrito de ARN de un gen LECT2.

En algunos aspectos, se exponen en la presente composiciones farmacéuticas que contienen un ARNi de LECT2 y un portador farmacéuticamente aceptable, métodos para utilizar las composiciones con el fin de inhibir la

expresión de un gen LECT2, y métodos para utilizar las composiciones farmacéuticas con el fin de tratar trastornos relacionados con la expresión de un gen LECT2 (p. ej., amiloidosis de LECT2).

I. Definiciones

Para una mayor comodidad, a continuación se proporciona el significado de ciertos términos y expresiones que se utilizan en la memoria descriptiva, los ejemplos y las reivindicaciones adjuntas. En el caso de que exista una discrepancia aparente entre el uso de un término en otras partes de esta memoria descriptiva y su definición proporcionada en esta sección, la definición de esta sección deberá prevalecer.

Como se usa en la presente, “LECT2” se refiere al factor 2 quimiotáctico de leucocitos (también conocido como quimiotaxina 2 derivada de células leucocíticas, condromodulina-II, chm-II o chm2). Remítase a, p. ej., Yamagoe S *et al. Genomics*, 1998 mar 15; 48(3):324-9. LECT2 se identificó en primer lugar como una nueva proteína quimiotáctica de neutrófilos y es idéntica a condromodulina II, un estimulante del crecimiento para condrocitos y osteoblastos. El gen LECT2 humano se cartografió hasta el cromosoma 5q31.1-q32. *Ibid.*

La secuencia de un transcrito de ARNm de LECT2 humano se puede encontrar en NM_002302.2 (SEQ ID NO: 1). La

secuencia de un ARNm de LECT2 de ratón se puede encontrar en NM_010702.1 y en NM_010702.2, y la secuencia de un ARNm de LECT2 de rata se puede encontrar en NM_001108405.1.

La proteína LECT2 humana es una proteína de 16 kDa segregada. La proteína LECT2 es segregada por el hígado. Tiene una elevada similitud de secuencia con las regiones repetidas de condromodulina de la proteína mieloide 1 inducida por myb de pollo (http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=LECT2; accedido el 29 de agosto de 2013). El polimorfismo en el gen LECT2 se ha asociado con artritis reumatoide. *Ibid.*

LECT2 se expresa en diversos tejidos, incluyendo el cerebro y el estómago, así como en el hígado. Koshimizu, Y & Ohtomi, M. (2010) *Brain Res.* 1311:1-11. En un estudio que usa tinción con immunoperoxidasa indirecta para investigar la expresión de LECT2 en órganos y tejidos humanos normales y enfermos distintos del hígado, se encontró que LECT2 estaba expresada generalmente en células vasculares, endoteliales y del músculo liso, en adipocitos, en células nerviosas cerebrales, en epitelio escamoso apical, en células paratiroides, en epitelio glandular sebáceo y del sudor, en cuerpos de Hassall y en algunas células mononucleares en tejido inmunohematopoyético. Esta proteína se tiñó generalmente de manera negativa, aunque ocasionalmente de forma positiva, en osteoblastos,

condrocitos, células cardíacas y del músculo esquelético, células del músculo liso del tubo digestivo, y las células epiteliales de algunos tejidos. Nagai *et al.* (1998) *Pathol Int.* 48(11):882-6.

El gen LECT2 humano codifica 151 aminoácidos, incluyendo un péptido señal de 18 aminoácidos. La proteína segregada tiene 133 restos. Se ha identificado un polimorfismo G/A en el nucleótido 172 en el exón 3 del gen (cambio de codón de GTC a ATC), y da cuenta de la presencia de valina o isoleucina en la posición 58 de la proteína no procesada (o posición 40 de la proteína madura). El alelo G tiene una frecuencia global de 0.477 y un intervalo de frecuencia de 0.6-0.7 en individuos de descendencia europea. Remítase a Benson, M.D. *et al*. (2008) *Kidney International*, 74: 218-222; Murphy, C. L. *et al.* (2010) *Am J Kidney Dis*, 56(6):1100-1107. Los pacientes con amiloidosis de LECT2 son típicamente homocigotos para el alelo G. Sin estar atados por la teoría, se ha sugerido que la sustitución de la cadena lateral de isoleucina enterrada (alelo A) por valina (alelo G) podría desestabilizar la proteína y posiblemente dar cuenta de la propensión amiloidogénica de esta variante de LECT2. Murphy, C. L. *et al.* (2010) *Am J Kidney Dis*, 56(6):1100-1107.

Como se usa en la presente, una “amiloidosis de LECT2” o “ALECT2” incluye una amiloidosis que implica depósitos de

amiloide o fibrillas de amiloide que contienen una proteína LECT2 (p. ej., cualquier variante polimórfica de una proteína LECT2) o una porción de una proteína LECT2. La proteína LECT2 puede ser una proteína LECT2 variante (p. ej., un mutante). La amiloidosis puede ser sistémica o local. En realizaciones, la amiloidosis de LECT2 implica depósitos de amiloide en el riñón y/o hígado.

Las letras “G,” “C,” “A,” “T” y “U” se refieren en general, cada una de ellas, a un nucleótido que contiene guanina, citosina, adenina, timidina y uracilo como base, respectivamente. Sin embargo, se sobreentenderá que el término "ribonucleótido" o "nucleótido" también se puede referir a un nucleótido modificado, según se detalla adicionalmente más adelante, o a un resto de reemplazo alternativo. El experto es consciente de que los restos de guanina, citosina, adenina y uracilo se pueden reemplazar por otros restos sin alterar de forma sustancial las propiedades de apareamiento de bases de un oligonucleótido que comprenda un nucleótido que contenga tal resto de reemplazo. Por ejemplo, sin carácter limitante, un nucleótido que comprenda inosina como su base podrá aparear sus bases con nucleótidos que contengan adenina, citosina o uracilo. Por lo tanto, los nucleótidos que contengan uracilo, guanidina o adenina se podrán reemplazar en las secuencias de nucleótidos del ARNbc que se expone en la

invención por un nucleótido que contenga, por ejemplo, inosina. En otro ejemplo, los restos de adenina y citosina en cualquier posición del oligonucleótido se pueden reemplazar por restos de guanina y uracilo, respectivamente, para formar un apareamiento de bases Wobble G-U con el ARNm diana. Las secuencias que contienen tales restos de reemplazo son adecuadas para las composiciones y los métodos que se exponen en la invención.

Las expresiones "ARNi", "iARN", "agente de ARNi" o "agente de iARN", tal como se utilizan en la presente, se refieren a un agente que contiene ARN, tal como se define este término en la presente, y el cual media la escisión dirigida de un transcrito de ARN, p. ej., mediante una vía del complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC). En una realización, un ARNi, tal como se describe en la presente, ejerce la inhibición de la expresión de LECT2. La inhibición de la expresión de ALECT2 se puede evaluar basándose en la reducción del nivel del ARNm de ALECT2 o la reducción del nivel de la proteína ALECT2. La expresión "secuencia diana", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una porción contigua de la secuencia de nucleótidos de una molécula de ARNm formada durante la transcripción de un gen ALECT2, incluyendo el ARNm que es un producto del procesamiento de ARN de un producto de transcripción primario. La porción diana de la secuencia

tendrá una longitud que sea al menos suficiente para que sirva como sustrato para la escisión dirigida por el ARNi en esa porción o cerca de ella. Por ejemplo, la secuencia diana tendrá una longitud generalmente de 9-36 nucleótidos, p. ej., una longitud de 15-30 nucleótidos, incluidos todos los subintervalos comprendidos entre estos valores. A modo de ejemplos no limitantes, la secuencia diana puede tener 15-30 nucleótidos, 15-26 nucleótidos, 15-23 nucleótidos, 15-22 nucleótidos, 15-21 nucleótidos, 15-20 nucleótidos, 15-19 nucleótidos, 15-18 nucleótidos, 15-17 nucleótidos, 18-30 nucleótidos, 18-26 nucleótidos, 18-23 nucleótidos, 18-22 nucleótidos, 18-21 nucleótidos, 18-20 nucleótidos, 19-30 nucleótidos, 19-26 nucleótidos, 19-23 nucleótidos, 19-22 nucleótidos, 19-21 nucleótidos, 19-20 nucleótidos, 20-30 nucleótidos, 20-26 nucleótidos, 20-25 nucleótidos, 20-24 nucleótidos, 20-23 nucleótidos, 20-22 nucleótidos, 20-21 nucleótidos, 21-30 nucleótidos, 21-26 nucleótidos, 21-25 nucleótidos, 21-24 nucleótidos, 21-23 nucleótidos o 21-22 nucleótidos.

La expresión "hebra que comprende una secuencia", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un oligonucleótido que comprende una cadena de nucleótidos descrita por la secuencia a la cual se hace referencia utilizando la nomenclatura estándar de nucleótidos.

El término "complementariedad", tal como se utiliza en la presente y a menos que se indique de otro modo, cuando se utiliza para describir una primera secuencia de nucleótidos en relación con una segunda secuencia de nucleótidos, se refiere a la capacidad de un oligonucleótido o polinucleótido que comprende la primera secuencia de nucleótidos para hibridarse y formar una estructura de tipo dúplex en ciertas condiciones con un oligonucleótido o polinucleótido que comprenda la segunda secuencia de nucleótidos, como sobreentenderá un experto. Tales condiciones pueden ser, por ejemplo, condiciones rigurosas, donde las condiciones rigurosas pueden incluir: NaCl 400 mM, PIPES 40 mM de pH 6.4, EDTA 1 mM, 50 ºC o 70 ºC durante 12-16 horas y a continuación un lavado. Se pueden aplicar otras condiciones tales como las condiciones fisiológicamente relevantes que se pueden encontrar dentro de un organismo. El experto será capaz de determinar el conjunto de condiciones que sean más adecuadas para una prueba de complementariedad de dos secuencias de acuerdo con la aplicación final de los nucleótidos hibridados.

Las secuencias complementarias dentro de un ARNi, p. ej., dentro de un ARNbc que se describe en la presente, incluyen el apareamiento de bases del oligonucleótido o polinucleótido que comprende una primera secuencia de nucleótidos con un oligonucleótido o polinucleótido que

comprende una segunda secuencia de nucleótidos a lo largo de la longitud completa de una o ambas secuencias de nucleótidos. En la presente, se puede decir que tales secuencias son "totalmente complementarias" entre sí. Sin embargo, cuando en la presente se dice que la primera secuencia es "sustancialmente complementaria" con respecto a una segunda secuencia, las dos secuencias pueden ser totalmente complementarias o pueden formar uno o dos, pero generalmente no más de 5, 4, 3 o 2, pares de bases con apareamientos erróneos cuando se hibridan para un dúplex de hasta 30 pares de bases, a la vez que mantienen la capacidad de hibridarse en las condiciones más relevantes para su aplicación final, p. ej., la inhibición de la expresión génica mediante una vía de RISC. Sin embargo, cuando dos oligonucleótidos se diseñan para que formen, cuando se hibriden, una o más protuberancias de una hebra, tales protuberancias no se deberán considerar como apareamientos erróneos con respecto a la determinación de la complementariedad. Por ejemplo, se puede decir que un ARNbc que comprenda un oligonucleótido con una longitud de 21 nucleótidos y otro oligonucleótido con una longitud de 23 nucleótidos, donde el oligonucleótido más largo comprende una secuencia de 21 nucleótidos que es totalmente complementaria respecto al oligonucleótido más corto, es

"totalmente complementario" a los efectos descritos en la presente.

Las secuencias "complementarias", tal como se utilizan en la presente, también pueden incluir, o estar formadas totalmente por, pares de bases que no sean de Watson-Crick y/o pares de bases formados a partir de nucleótidos modificados y no naturales, siempre que se cumplan los requisitos anteriores respecto a su capacidad para hibridarse. Los pares de bases que no son de Watson-Crick incluyen, sin carácter limitante, el apareamiento de bases de Hoogstein o Wobble G:U.

Las expresiones "complementario/a", "totalmente complementario/a" y "sustancialmente complementario/a" en la presente se pueden utilizar con respecto a la coincidencia de bases entre la hebra sentido y la hebra antisentido de un ARNbc, o entre la hebra antisentido de un agente de ARNi y una secuencia diana, como se comprenderá a partir del contexto de su uso.

Un polinucleótido que sea "sustancialmente complementario respecto a al menos parte de" un ARN mensajero (ARNm), tal como se utiliza en la presente, se refiere a un polinucleótido que es sustancialmente complementario respecto a una porción contigua del ARNm de interés (p. ej., un ARNm que codifica una proteína ALECT2). Por ejemplo, un polinucleótido es complementario a al menos

una parte de un ARNm de LECT2 si la secuencia es sustancialmente complementaria respecto a una porción no interrumpida de un ARNm que codifica LECT2. Como otro ejemplo, un polinucleótido es complementario a al menos una parte de un ARNm de LECT2 si la secuencia es sustancialmente complementaria respecto a una porción no interrumpida de un ARNm que codifica LECT2.

La expresión "ARN bicatenario" o "ARNbc", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un ARNi que incluye una molécula de ARN o un complejo de moléculas con una región dúplex hibridada que comprende dos hebras de ácido nucleico antiparalelas y sustancialmente complementarias, que se dirá que tienen orientaciones "sentido" y "antisentido" respecto al ARN diana. La región dúplex puede tener cualquier longitud que permita una degradación específica de un ARN diana deseado, p. ej., mediante una vía de RISC, pero normalmente tendrá una longitud comprendida en un intervalo de 9 a 36 pares de bases, p. ej., una longitud de 15-30 pares de bases. Considerando un dúplex entre 9 y 36 pares de bases, el dúplex puede tener cualquier longitud dentro de este intervalo, por ejemplo, 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 o 36 pares de bases y cualquier subintervalo comprendido entre estos valores, que incluye, sin carácter limitante, 15-30 pares

de bases, 15-26 pares de bases, 15-23 pares de bases, 15-22 pares de bases, 15-21 pares de bases, 15-20 pares de bases, 15-19 pares de bases, 15-18 pares de bases, 15-17 pares de bases, 18-30 pares de bases, 18-26 pares de bases, 18-23 pares de bases, 18-22 pares de bases, 18-21 pares de bases, 18-20 pares de bases, 19-30 pares de bases, 19-26 pares de bases, 19-23 pares de bases, 19-22 pares de bases, 19-21 pares de bases, 19-20 pares de bases, 20-30 pares de bases, 20-26 pares de bases, 20-25 pares de bases, 20-24 pares de bases, 20-23 pares de bases, 20-22 pares de bases, 20-21 pares de bases, 21-30 pares de bases, 21-26 pares de bases, 21-25 pares de bases, 21-24 pares de bases, 21-23 pares de bases o 21-22 pares de bases. Los ARNbc generados en la célula mediante el procesamiento con Dicer y enzimas similares tienen generalmente una longitud comprendida en el intervalo de 19-22 pares de bases. Una hebra de la región dúplex de un ADNbc comprende una secuencia que es sustancialmente complementaria respecto a una región de un ARN diana. Las dos hebras que forman la estructura dúplex pueden ser de una única molécula de ARN que tenga al menos una región autocomplementaria o se pueden formar a partir de dos o más moléculas de ARN diferentes. Cuando la región dúplex se forma a partir de dos hebras de una única molécula, la molécula puede tener una región dúplex separada por una única cadena aislada de nucleótidos (que

se denomina en la presente "bucle de horquilla") entre el extremo 3' de una hebra y el extremo 5' de la otra hebra respectiva que forma la estructura de dúplex. El bucle de horquilla puede comprender al menos un nucleótido no apareado; en algunas realizaciones, el bucle de horquilla puede comprender al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 20, al menos 23 o más nucleótidos no apareados. Cuando las dos hebras sustancialmente complementarias de un ARNbc comprenden moléculas de ARN diferentes, estas moléculas no tienen que estar necesariamente conectadas covalentemente, pero pueden estarlo. Cuando las dos hebras están conectadas covalentemente por medios que no sean un bucle de horquilla, la estructura conectora se denomina "conector". En la presente también se utiliza el término "ARNip" para referirse a un ARNbc según se ha descrito anteriormente.

En otra realización, el agente de ARNi puede ser un "ARNip monocatenario" que se introduce en una célula u organismo para inhibir un ARNm diana. Los agentes que son ARNi monocatenarios se unen a la endonucleasa de RISC Argonauta 2, que a continuación escinde el ARNm diana. Los ARNip monocatenarios contienen generalmente 15-30 nucleótidos y están modificados químicamente. El diseño y la evaluación de ARNip monocatenarios se describe en la

Patente de EE. UU. N.º 8.101.348 y en Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150: 883-894, los contenidos completos de cada uno de los cuales se incorporan a la presente por referencia. Cualquiera de las secuencias de nucleótidos antisentido descritas en la presente (p. ej., las secuencias proporcionadas en las Tablas 2-3, 5-6, 9-10) se pueden utilizar como un ARNip monocatenario según se describe en la presente o se pueden modificar químicamente mediante los métodos descritos en Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150;:883-894.

En otro aspecto, el agente de ARN es una "molécula de ARN antisentido monocatenaria". Una molécula de ARN antisentido monocatenaria es complementaria respecto a una secuencia dentro del ARNm diana. Las moléculas de ARN antisentido monocatenarias pueden inhibir la traducción de un modo estequiométrico apareando sus bases con el ARNm y obstruyendo físicamente la maquinaria de traducción, remítase a Dias, N. *et al.*, (2002) *Mol Cancer Ther* 1:347-355. Como alternativa, las moléculas antisentido monocatenarias inhiben un ARNm diana hibridándose con la diana y escindiendo la diana a través de un evento de escisión de tipo RNasaH. La molécula de ARN antisentido monocatenaria puede tener una longitud comprendida entre aproximadamente 10 y aproximadamente 30 nucleótidos y puede tener una secuencia que sea complementaria respecto a una secuencia diana. En una realización, la molécula de ARN

antisentido monocatenaria puede comprender una secuencia que tenga al menos aproximadamente 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más nucleótidos contiguos complementarios a cualquiera de los sitios diana descritos en la presente, p. ej., secuencias proporcionadas en una cualquiera de las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10. En otra realización, la molécula de ARN antisentido monocatenaria puede comprender una secuencia que es al menos alrededor de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, o más nucleótidos contiguos de cualquiera de las secuencias de nucleótidos antisentido descritas en la presente, p. ej., las secuencias proporcionadas en cualquiera de las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10.

El experto reconocerá que la expresión "molécula de ARN" o "molécula de ácido ribonucleico" engloba, no solo las moléculas de ARN tal como se expresan o encuentran en la naturaleza, sino también análogos y derivados de ARN que comprenden uno o más análogos o derivados de ribonucleótidos/ribonucleósidos según se describen en la presente o como se conocen en la técnica. En términos estrictos, un "ribonucleósido" incluye una base nucleosídica y un azúcar de tipo ribosa, y un "ribonucleótido" es un ribonucleósido con uno, dos o tres restos de tipo fosfato. Sin embargo, los términos "ribonucleósido" y "ribonucleótido" se pueden considerar

equivalentes según se utilizan en la presente. El ARN se puede modificar en la estructura de la base nucleotídica, en la estructura de ribosa, o en la estructura del esqueleto ribosa-fosfato, p. ej., según se describe en la presente más adelante. Sin embargo, las moléculas que comprenden análogos o derivados de ribonucleósidos deben conservar la capacidad para formar un dúplex. A modo de ejemplos no limitantes, una molécula de ARN también puede incluir al menos un ribonucleósido modificado, que incluye, sin carácter limitante, un nucleósido con una modificación de tipo 2'-O-metilo, un nucleósido que comprende un grupo 5'-fosforotioato, un nucleósido terminal unido a un derivado de tipo colesterilo o un grupo de tipo bisdecilamida del ácido dodecanoico, un nucleósido bloqueado, un nucleósido que no sea básico, un nucleósido acíclico, un nucleósido con una modificación de tipo 2'-desoxi-2'-fluoro, un nucleósido con una modificación de tipo 2'-amino, un nucleósido con una modificación de tipo 2'-alquilo, un nucleósido de tipo morfolino, un nucleósido que comprende una base que no sea natural o un fosforamidato, o cualquier combinación de estos. Como alternativa, una molécula de ARN puede comprender al menos dos ribonucleósidos modificados, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 o más, hasta la longitud

completa de la molécula de ARNbc. Las modificaciones no tienen que ser necesariamente las mismas para cada uno de esta pluralidad de ribonucleósidos modificados en una molécula de ARN. En una realización, los ARN modificados contemplados para ser utilizados en los métodos y las composiciones que se describen en la presente son ácidos nucleicos peptídicos (PNA, por sus siglas en inglés) que tienen la capacidad de formar la estructura de dúplex requerida y que permiten o median la degradación específica de un ARN diana, p. ej., mediante una vía de RISC.

En un aspecto, un ribonucleósido modificado incluye un desoxiribonucleósido. En un caso de este tipo, un agente de ARNi puede comprender uno o más desoxinucleósidos, que incluyen, por ejemplo, una o más protuberancias de desoxinucleósidos, o uno o más desoxinucleósidos dentro de la porción bicatenaria del ARNbc. En ciertas realizaciones, la molécula de ARN comprende un porcentaje de desoxirribonucleosas de al menos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95% o más (pero no 100%) desoxirribonucleósidos, p. ej., en una o ambas hebras. En otras realizaciones, el término “ARNi” no engloba una molécula de ADN bicatenario (p. ej., una molécula de ADN bicatenario de origen natural o una molécula de ADN que contiene 100% de desoxinucleósidos).

En un aspecto, un agente de interferencia por ARN incluye un ARN monocatenario que interacciona con una secuencia de ARN diana para dirigir la escisión del ARN diana. Sin pretender vincularse a ninguna teoría, el ARN bicatenario largo que es introducido en células es fragmentado para obtener ARNip por una endonucleasa de Tipo III conocida como Dicer (Sharp *et al*., *Genes Dev*. 2001, 15:485). Dicer, una enzima similar a la ribonucleasa III, procesa el ARNbc para obtener ARN interferentes pequeños de 19-23 pares de bases con protuberancias 3' de dos bases características (Bernstein *et al*., (2001) *Nature* 409:363). A continuación, los ARNip se incorporan en un complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC), donde una o más helicasas deshacen el dúplex de ARNip, lo cual permite que la hebra antisentido complementaria guíe el reconocimiento de la diana (Nykanen *et al*., (2001) *Cell* 107:309). Tras la unión al ARNm diana adecuado, una o más endonucleasas del RISC escinden la diana para inducir el silenciamiento (Elbashir *et al*., (2001) *Genes Dev*. 15:188). Por lo tanto, en un aspecto, la invención se refiere a un ARN monocatenario que propicia la formación de un complejo RISC para ejercer el silenciamiento del gen diana.

La expresión "protuberancia de nucleótidos", tal como se utiliza en la presente, se refiere a al menos un nucleótido no apareado que sobresale de la estructura del

dúplex de un ARNi, p. ej., un ARNbc. Por ejemplo, cuando un extremo 3' de una hebra de un ARNbc se extiende más allá del extremo 5' de la otra hebra, o viceversa, se produce una protuberancia de nucleótidos. Un ARNbc puede comprender una protuberancia de al menos un nucleótido; como alternativa, la protuberancia puede comprender al menos dos nucleótidos, al menos tres nucleótidos, al menos cuatro nucleótidos, al menos cinco nucleótidos o más. Una protuberancia de nucleótidos puede comprender o estar constituida por un análogo de nucleótido/nucleósido, que incluye un desoxinucleótido/nucleósido. La o las protuberancias se pueden encontrar en la hebra sentido, la hebra antisentido o cualquier combinación de estas. Además, el o los nucleótidos de una protuberancia pueden estar presentes en el extremo 5', el extremo 3' o ambos extremos de la hebra sentido o antisentido de un ARNbc.

En una realización, la hebra antisentido de un ARNbc tiene una protuberancia de 1-10 nucleótidos en el extremo 3' y/o el extremo 5'. En una realización, la hebra sentido de un ARNbc tiene una protuberancia de 1-10 nucleótidos en el extremo 3' y/o el extremo 5'. En otra realización, uno o más de los nucleótidos de la protuberancia se reemplaza por un nucleósido-tiofosfato.

Las expresiones "romo" o "de extremos romos", tal como se utilizan en la presente para hacer referencia a un

ARNbc, se refieren a que no hay nucleótidos ni análogos de nucleótidos no apareados en un extremo terminal determinado de un ARNbc, es decir, no hay protuberancias de nucleótidos. Uno o ambos extremos de un ARNbc pueden ser romos. Cuando ambos extremos de un ARNbc son romos, se dice que el ARNbc es de extremos romos. Para que no haya lugar a dudas, un ARNbc "de extremos romos" es un ARNbc que es romo en ambos extremos, es decir, que no tiene protuberancia de nucleótidos en ninguno de los extremos de la molécula. En la mayoría de los casos, una molécula de este tipo será bicatenaria en toda su longitud.

La expresión "hebra antisentido" o "hebra guía" se refiere a la hebra de un ARNi, p. ej., un ARNbc, que incluye una región que es sustancialmente complementaria respecto a una secuencia diana. La expresión "región de complementariedad", tal como se utiliza en la presente, se refiere a la región de la hebra antisentido que es sustancialmente complementaria respecto a una secuencia, por ejemplo, una secuencia diana, según se define en la presente. Cuando la región de complementariedad no es totalmente complementaria respecto a la secuencia diana, los apareamientos erróneos se pueden producir en las regiones internas o terminales de la molécula. En general, los apareamientos erróneos más tolerados se encuentran en

las regiones terminales, p. ej., en los 5, 4, 3 o 2 nucleótidos de los extremos 5' y/o 3'.

La expresión "hebra sentido" o "hebra pasajera", tal como se utiliza en la presente, se refiere a la hebra de un ARNi que incluye una región que es sustancialmente complementaria respecto a una región de la hebra antisentido, según se define este término en la presente.

El término "SNALP" (por sus siglas en inglés), tal como se utiliza en la presente, se refiere a una partícula de ácido nucleico-lípido estable. Una SNALP representa una vesícula de lípidos que recubre un interior acuoso reducido que comprende un ácido nucleico tal como un ARNi o un plásmido a partir del cual se transcribe un ARNi. Las SNALP se describen, p. ej., en las Publicaciones de Solicitud de Patente de EE. UU. N.os 2006/0240093, 2007/0135372, y en la Solicitud Internacional N.º WO 2009/082817. Estas solicitudes se incorporan a la presente por referencia en su totalidad.

La expresión "se introduce en una célula", cuando hace referencia a un ARNi, se refiere a que se facilita o se lleva a cabo su captación o absorción en la célula, según sobreentienden los expertos en la técnica. La absorción o captación de un ARNi se puede producir a través de procesos celulares activos o difusos sin ayuda, o mediante dispositivos o agentes auxiliares. El significado de este

término no se limita a células *in vitro*; un ARNi también se puede "introducir en una célula", donde la célula sea parte de un organismo vivo. En un caso de este tipo, la introducción en la célula incluirá el suministro al organismo. Por ejemplo, para un suministro *in vivo*, el ARNi se pueden inyectar en un punto tisular o se puede administrar por vía sistémica. El suministro *in vivo* también se puede llevar a cabo mediante un sistema de suministro de β-glucano tal como los que se describen en las Patentes de EE. UU. N.os 5.032.401 y 5.607.677, y en la Publicación de EE. UU. N.º 2005/0281781, las cuales se incorporan a la presente por referencia en su totalidad. La introducción *in vitro* en una célula incluye métodos conocidos en la técnica tales como la electroporación y lipofección. Existen otras estrategias conocidas en la técnica o que se describen en la presente más adelante.

La expresión "modular la expresión de", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una "inhibición" al menos parcial o una "activación" parcial de la expresión de un gen LECT2 en una célula tratada con una composición de ARNi según se describe en la presente en comparación con la expresión de LECT2 en una célula de control. Una célula de control incluye una célula no tratada o una célula tratada con un ARNi de control que no actúe sobre la diana.

Las expresiones "activar", "potenciar", "aumentar la expresión de", "incrementar la expresión de" y similares, siempre que hagan referencia a un gen LECT2, se refieren en la presente a la activación al menos parcial de la expresión de un gen LECT2, que se manifiesta por un incremento de la cantidad de ARNm de LECT2, el cual se puede aislar o detectar a partir de una primera célula o grupo de células en las cuales se transcriba un gen LECT2 y que se han o hayan tratado de un modo tal que se incremente la expresión de un gen LECT2, en comparación con una segunda célula o grupo de células sustancialmente idénticas a la primera célula o grupo de células pero que no se han o hayan tratado de ese modo (células de control).

En una realización, la expresión de un gen LECT2 se activa al menos aproximadamente un 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% o 50% mediante la administración de un ARNi según se describe en la presente. En algunas realizaciones, un gen LECT2 se activa al menos aproximadamente un 60%, 70% u 80% mediante la administración de un ARNi que se expone en la invención. En algunas realizaciones, la expresión de un gen LECT2 se activa al menos aproximadamente un 85%, 90% o 95% o más mediante la administración de un ARNi según se describe en la presente. En algunas realizaciones, la expresión del gen LECT2 se incrementa al menos 1 vez, al menos 2 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al

menos 50 veces, al menos 100 veces, al menos 500 veces, al menos 1000 veces o más en células tratadas con un ARNi según se describe en la presente en comparación con la expresión en una célula no tratada. La activación de la expresión por parte de ARNbc pequeños se describe, por ejemplo, en Li *et al*., 2006 *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.A.* 103:17337-42, y en US2007/0111963 y US2005/226848, cada uno de los cuales se incorpora a la presente por referencia.

Las expresiones "silenciar", "inhibir la expresión de", "reducir la expresión de", "suprimir la expresión de" y similares, siempre que hagan referencia a un gen LECT2, se refieren en la presente a la supresión al menos parcial de la expresión de un gen LECT2, según se evalúa, p. ej., en función de la expresión del ARNm de LECT2, la expresión de la proteína LECT2 u otro parámetro relacionado funcionalmente con la expresión del gen LECT2. Por ejemplo, la inhibición de la expresión de LECT2 se puede manifestar por una reducción de la cantidad de ARNm de LECT2 que se puede aislar o detectar a partir de una primera célula o grupo de células en las que se transcriba un gen LECT2 y que se han o hayan tratado de un modo tal que se inhiba la expresión de un gen LECT2, en comparación con un control. El control puede ser una segunda célula o grupo de células sustancialmente idénticas a la primera célula o grupo de células, con la excepción de que la segunda célula o grupo

de células no se han tratado del mismo modo (células de control). El grado de inhibición se expresa normalmente como un porcentaje de un nivel de control, p. ej.,

$$\frac{(\text{ARNm en células de control}) - (\text{ARNm en células tratadas})}{(\text{ARNm en células de control})} \bullet 100\%$$

Como alternativa, el grado de inhibición se puede proporcionar en términos de una reducción de un parámetro que esté relacionado funcionalmente con la expresión del gen LECT2, p. ej., la cantidad de proteína codificada por un gen LECT2. La reducción de un parámetro relacionado funcionalmente con la expresión del gen LECT2 se puede expresar de forma similar como un porcentaje de un nivel de control. En principio, el silenciamiento de un gen LECT2 se puede determinar en cualquier célula que exprese LECT2, ya sea constitutivamente o mediante una modificación genómica, y mediante cualquier ensayo adecuado.

Por ejemplo, en ciertos casos, la expresión de un gen LECT2 se suprime al menos aproximadamente un 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% o 50% mediante la administración de un ARNi descrito en la presente. En algunas realizaciones, un gen LECT2 se suprime al menos aproximadamente un 60%, 65%, 70%, 75% u 80% mediante la administración de un ARNi descrito en la presente. En algunas realizaciones, un gen LECT2 se suprime al menos aproximadamente un 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o más mediante la administración de un ARNi según se describe en la presente.

En el contexto de la presente descripción, los términos "tratar", "tratamiento" y similares se refieren a prevenir, aliviar o reducir al menos un síntoma asociado con un trastorno relacionado con la expresión de LECT2, o ralentizar o revertir la evolución o la evolución anticipada de tal trastorno. Por ejemplo, los métodos que se exponen en la presente, cuando se emplean para tratar una amiloidosis de LECT2, pueden servir para inhibir la deposición de amiloide, para reducir o prevenir uno o más síntomas de la amiloidosis, o para reducir el riesgo o gravedad de afecciones asociadas (p. ej., síndrome nefrótico o hepatitis). De este modo, a menos que el contexto indique claramente lo contrario, se pretende que los términos "tratar", "tratamiento" y similares engloben la profilaxis, p. ej., la prevención de trastornos y/o síntomas de trastornos relacionados con la expresión de LECT2.

El término "reducir", en el contexto de un síntoma o marcador de una enfermedad, se refiere a una reducción, p. ej., una reducción estadística o clínicamente significativa de dicho nivel. La reducción puede ser, por ejemplo, de al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80% o al menos un 90%. La reducción se puede

reducir hasta un nivel que se acepta como perteneciente al intervalo normal para un individuo sin tal trastorno.

Las expresiones "cantidad terapéuticamente eficaz" y "cantidad profilácticamente eficaz" y similares, tal como se utilizan en la presente, se refieren a una cantidad que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento, la prevención o la gestión de cualquier trastorno o proceso patológico relacionado con la expresión de LECT2. La cantidad específica que es terapéuticamente eficaz puede variar dependiendo de factores conocidos en la técnica tales como, por ejemplo, el tipo de trastorno o proceso patológico, el historial y la edad del paciente, la etapa del trastorno o proceso patológico, y la administración de otras terapias.

La expresión "composición farmacéutica", tal como se utiliza en la presente, comprende una cantidad farmacológicamente eficaz de un ARNi y un portador farmacéuticamente aceptable. La expresión "cantidad farmacológicamente eficaz", "cantidad terapéuticamente eficaz" o simplemente "cantidad eficaz", tal como se utiliza en la presente, se refiere a aquella cantidad de un ARNi que es eficaz para producir el resultado farmacológico, terapéutico o preventivo esperado. Por ejemplo, en un método para tratar un trastorno relacionado con la expresión de LECT2 (p. ej., una amiloidosis de

LECT2), una cantidad eficaz incluye una cantidad eficaz para reducir uno o más síntomas asociados con la amiloidosis de LECT2, una cantidad eficaz para inhibir la deposición de amiloide (p. ej., deposición de amiloide de LECT2), o una cantidad eficaz para reducir el riesgo de desarrollar afecciones asociadas con amiloidosis de LECT2. Por ejemplo, si un tratamiento clínico determinado se considera eficaz cuando se produce una reducción de al menos un 10% en un parámetro medible asociado con una enfermedad o trastorno, una cantidad terapéuticamente eficaz de un fármaco para el tratamiento de esta enfermedad o trastorno será la cantidad necesaria para obtener una reducción de al menos un 10% en ese parámetro. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un ARNi que tenga LECT2 como diana puede reducir un nivel de ARNm de LECT2 o un nivel de proteína LECT2 en cualquier cantidad medible, p. ej., al menos un 10%, 20%, 30%, 40% o 50%.

La expresión "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador para la administración de un agente terapéutico. Tales portadores incluyen, sin carácter limitante, solución salina, solución tamponada, dextrosa, agua, glicerol, etanol y combinaciones de estos. El término excluye específicamente el medio de cultivo celular. Para los fármacos que se administran por vía oral, los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, sin

carácter limitante, excipientes farmacéuticamente aceptables tales como diluyentes inertes, agentes desintegrantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y conservantes. Los diluyentes inertes adecuados incluyen carbonato de sodio y calcio, fosfato de sodio y calcio, y lactosa, mientras que el almidón de maíz y el ácido algínico son agentes desintegrantes adecuados. Los agentes aglutinantes pueden incluir almidón y gelatina, mientras que el agente lubricante, si está presente, será generalmente estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Si se desea, los comprimidos se pueden recubrir con un material tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, para retrasar la absorción en el aparato gastrointestinal. Los agentes incluidos en las formulaciones farmacológicas se describen con más detalle en la presente posteriormente.

El término "aproximadamente", cuando hace referencia a un número o a un intervalo, se refiere a que el número o intervalo mencionado es una aproximación dentro de la variabilidad experimental (o dentro del error experimental estadístico) y, por lo tanto, el número o intervalo numérico puede variar, por ejemplo, entre un 1% y un 15% del número o intervalo numérico mencionado.

II. Agentes de ARNi

En la presente se describen agentes de ARNi que modulan (p. ej., inhiben) la expresión de un gen LECT2.

En algunas realizaciones, el agente de ARNi activa la expresión de un gen LECt2 en una célula o mamífero.

En algunas realizaciones, el agente de ARNi incluye moléculas de ácido ribonucleico bicatenarias (ARNbc) para inhibir la expresión de un gen LECT2 en una célula o en un sujeto (p. ej., en un mamífero, p. ej., en un ser humano), donde el ARNbc incluye una hebra antisentido que tiene una región de complementariedad que es complementaria respecto a al menos una parte de un ARNm formado en la expresión de un gen LECT2, y donde la región de complementariedad tiene una longitud de 30 nucleótidos o inferior, generalmente una longitud de 19-24 nucleótidos, y donde el ARNbc, cuando entra en contacto con una célula que expresa el gen LECT2, inhibe la expresión del gen LECT2, p. ej., en al menos un 10%, 20%, 30%, 40% o 50%.

La modulación (p. ej., la inhibición) de la expresión del gen LECT2 se puede evaluar mediante, por ejemplo, un método basado en PCR o ADN ramificado (ADNr), o mediante un método basado en proteínas tal como la inmunotransferencia de Western. La expresión de un gen LECT2 en un cultivo celular, tal como células COS, células HeLa, hepatocitos primarios, células HepG2, células cultivadas primarias, o en una muestra biológica procedente de un sujeto se puede

evaluar midiendo los niveles de ARNm de LECT2, tal como mediante un ensayo de ADNr o TaqMan, o midiendo los niveles de proteínas, por ejemplo, mediante un análisis de inmunofluorescencia, utilizando, por ejemplo, técnicas de citometría de flujo o inmunotransferencia de Western.

Un ARNbc incluye dos hebras de ARN que son suficientemente complementarias para hibridarse y formar una estructura de dúplex en las condiciones en las que se utilizará el ARNbc. Una hebra de un ARNbc (la hebra antisentido) incluye una región de complementariedad que es sustancialmente complementaria, y en general totalmente complementaria, respecto a una secuencia diana, derivada de la secuencia de un ARNm formado durante la expresión de un gen LECT2. La otra hebra (la hebra sentido) incluye una región que es complementaria respecto a la hebra antisentido, de modo que las dos hebras se hibridan y forman una estructura de dúplex cuando se combinan en condiciones adecuadas. En general, la estructura de dúplex tiene una longitud comprendida entre 15 y 30 pares de bases inclusive, más generalmente entre 18 y 25 inclusive, aún más generalmente entre 19 y 24 inclusive, y de la forma más general entre 19 y 21 inclusive. De forma similar, la región de complementariedad respecto a la secuencia diana tiene una longitud comprendida entre 15 y 30 nucleótidos inclusive, más generalmente entre 18 y 25 inclusive, aún

más generalmente entre 19 y 24 inclusive, y de la forma más general entre 19 y 21 inclusive. En algunas realizaciones, el ARNbc tiene una longitud comprendida entre 15 y 20 nucleótidos inclusive, y en otras realizaciones el ARNbc tiene una longitud comprendida entre 25 y 30 nucleótidos inclusive. Como reconocerá el experto, la región que actúa como diana de un ARN que actúa como diana para ser escindido formará parte en la mayoría de los casos de una molécula de ARN más larga, a menudo una molécula de ARNm. Cuando sea relevante, una "parte" de una diana de ARNm es una secuencia contigua de una diana de ARNm de longitud suficiente para que sea un sustrato para la escisión dirigida por iARN (es decir, la escisión a través de una vía de RISC). Los ARNbc que tienen dúplex de tan solo 9 pares de bases pueden mediar, en algunas circunstancias, la escisión del ARN dirigida por iARN. En la mayoría de los casos, una diana tendrá una longitud de al menos 15 nucleótidos, p. ej., una longitud de 15-30 nucleótidos.

Un experto en la técnica también reconocerá que la región dúplex es una porción funcional principal de un ARNbc, p. ej., una región dúplex de 9 a 36, p. ej., de 15-30 pares de bases. De este modo, en una realización, siempre que se procese hasta obtener un dúplex funcional de, p. ej., 15-30 pares de bases que tenga como diana un ARN deseado para escindirlo, una molécula de ARN o un

complejo de moléculas de ARN que tengan una región dúplex con un tamaño superior a 30 pares de bases será un ARNbc. De este modo, un experto reconocerá que, en una realización, un miARN será entonces un ARNbc. En otra realización, un ARNbc no es un miARN de origen natural. En otra realización, un agente de ARNi útil para actuar sobre la expresión de LECT2 no se genera en la célula diana mediante la escisión de un ARNbc más largo.

Un ARNbc según se describe en la presente puede incluir además una o más protuberancias de nucleótidos monocatenarias. El ARNbc se puede sintetizar mediante métodos estándar conocidos en la técnica, según se describe adicionalmente más adelante, p. ej., mediante el uso de un sintetizador de ADN automatizado tal como los comercializados por, por ejemplo, Biosearch, Applied Biosystems, Inc. En una realización, un gen de LECT2 es un gen de LECT2 humano. En otra realización, el gen de LECT2 es un gen de LECT2 de rata o ratón. En realizaciones específicas, el ARNbc comprende una hebra sentido que comprende o consiste en una secuencia sentido seleccionada de las secuencias sentido seleccionadas de las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10, y una hebra antisentido que comprende o consiste en una secuencia antisentido seleccionada de las secuencias antisentido proporcionadas en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10.

En un aspecto, un ARNbc incluirá al menos secuencias de nucleótidos sentido y antisentido, donde la hebra sentido se selecciona a partir de secuencias que se proporcionan en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10, y la hebra antisentido correspondiente se selecciona de las secuencias proporcionadas en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10.

En estos aspectos, una de las dos secuencias es complementaria respecto a la otra de las dos secuencias, siendo una de las secuencias sustancialmente complementaria respecto a una secuencia de un ARNm generado mediante la expresión de un gen LECT2. En este sentido, un ARNbc incluirá dos oligonucleótidos, donde un oligonucleótido se describe como la hebra sentido, y el segundo oligonucleótido se describe como la hebra antisentido correspondiente. Según se describe en otras partes de la presente y se sabe en la técnica, las secuencias complementarias de un ARNbc también pueden estar contenidas como regiones autocomplementarias de una única molécula de ácido nucleico, en lugar de estar en oligonucleótidos separados.

El experto es muy consciente de que los ARNbc que tienen una estructura de dúplex con una longitud comprendida entre 20 y 23, pero específicamente de 21, pares de bases se consideran particularmente eficaces a la hora de inducir la interferencia por ARN (Elbashir *et al.*,

EMBO 2001, 20:6877-6888). Sin embargo, otros han observado que estructuras de dúplex de ARN más largas o más cortas también pueden ser eficaces. En las realizaciones descritas anteriormente, debido a la naturaleza de las secuencias de oligonucleótido proporcionadas en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10, los ARNbc descritos en la presente pueden incluir al menos una hebra con una longitud de como mínimo 19 nucleótidos. Cabe esperar razonablemente que dúplex más cortos que tengan una de las secuencias de las Tablas 2, 3, 5, 6, 9, o 10 menos solamente unos pocos nucleótidos en uno o ambos extremos serán similarmente eficaces en comparación con los ARNbc descritos anteriormente.

En algunas realizaciones, el ARNbc tiene una secuencia parcial de al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más nucleótidos contiguos de una de las secuencias de las Tablas 2, 3, 5, 6, 9 o 10.

En algunas realizaciones, el ARNbc tiene una secuencia antisentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, o 19 nucleótidos contiguos de una secuencia antisentido proporcionada en la Tabla 2 y una secuencia sentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, o 19 nucleótidos contiguos de una secuencia sentido correspondiente proporcionada en la Tabla 2.

En algunas realizaciones, el ARNbc comprende una secuencia antisentido que comprende al menos 15, 16, 17,

18, 19, 20, 21, 22, o 23 nucleótidos contiguos de una secuencia antisentido proporcionada en la Tabla 3 y una secuencia sentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20, o 21 nucleótidos contiguos de una secuencia sentido correspondiente proporcionada en la Tabla 3.

En algunas realizaciones, el ARNbc comprende una secuencia antisentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, o 23 nucleótidos contiguos de una secuencia antisentido proporcionada en la Tabla 5 y una secuencia sentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20, o 21 nucleótidos contiguos de una secuencia sentido correspondiente proporcionada en la Tabla 5.

En algunas realizaciones, el ARNbc comprende una secuencia antisentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, o 23 nucleótidos contiguos de una secuencia antisentido proporcionada en la Tabla 6 y una secuencia sentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20, o 21 nucleótidos contiguos de una secuencia sentido correspondiente proporcionada en la Tabla 6.

En algunas realizaciones, el ARNbc comprende una secuencia antisentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, o 23 nucleótidos contiguos de una secuencia antisentido proporcionada en la Tabla 5 y una secuencia sentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18,

19, 20, o 21 nucleótidos contiguos de una secuencia sentido correspondiente proporcionada en la Tabla 9.

En algunas realizaciones, el ARNbc comprende una secuencia antisentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, o 23 nucleótidos contiguos de una secuencia antisentido proporcionada en la Tabla 6 y una secuencia sentido que comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20, o 21 nucleótidos contiguos de una secuencia sentido correspondiente proporcionada en la Tabla 10.

En algunas de tales realizaciones, el ARNbc, aunque comprende solamente una porción de las secuencias proporcionadas en la Tabla 2, 3, 5, 6, 9 o 10, es igualmente eficaz inhibiendo un nivel de expresión de LECT2 como lo hace un ARNbc que comprende las secuencias de longitud completa proporcionadas en la Tabla 2, 3, 5, 6, 9 o 10. En algunas realizaciones, el ARNbc difiere en su inhibición de un nivel de expresión de un gen LECT2 en no más de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, o 50 % de inhibición en comparación con un ARNbc que comprende la secuencia completa descrita en la presente.

Los ARNi proporcionados en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10 identifican un sitio en un transcrito de LECT2 que es susceptible a la escisión mediada por RISC. Como tal, la presente invención expone además ARNi que selecciona como diana dentro de una de tales secuencias. Como se usa en la

presente, se afirma que un ARNi selecciona como diana dentro de un sitio particular de un transcrito de ARN si el ARNi promueve la escisión del transcrito en cualquier parte dentro de ese sitio particular. Tal ARNi incluirá generalmente al menos 15 nucleótidos contiguos de una de las secuencias proporcionadas en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10 acoplada a secuencias nucleotídicas adicionales tomadas de la región contigua a la secuencia seleccionada en un gen LECT2.

Aunque una secuencia diana tiene generalmente una longitud de 15-30 nucleótidos, existe una gran variación en la idoneidad de secuencias particulares en este intervalo para dirigir la escisión de cualquier ARN diana determinado. Varios paquetes de software y las directrices que se exponen en la presente proporcionan una guía para la identificación de secuencias diana óptimas para cualquier diana génica determinada, pero también se puede adoptar una estrategia empírica en la cual se coloca una "ventana" o "máscara" de un tamaño determinado (a modo de ejemplo no limitante, 21 nucleótidos) de forma literal o figurada (que incluye, p. ej., *in silico*) sobre la secuencia de ARN diana para identificar secuencias en el intervalo de tamaños que puedan servir como secuencias diana. Moviendo la "ventana" de la secuencia progresivamente un nucleótido hacia adelante o hacia atrás respecto a una localización de la

secuencia diana inicial, se puede identificar la siguiente secuencia diana potencial, hasta que se identifica el conjunto completo de posibles secuencias para cualquier tamaño seleccionado de la diana determinada. Este proceso, acoplado con la síntesis y la evaluación sistemáticas de las secuencias identificadas (utilizando ensayos descritos en la presente o conocidos en la técnica) para identificar las secuencias que presentan un comportamiento óptimo, permite identificar las secuencias de ARN que, cuando actúan como diana de un agente de ARNi, median la mejor inhibición de la expresión del gen diana. De este modo, aunque las secuencias identificadas, por ejemplo, en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10 representan secuencias diana eficaces, se contempla que se puede conseguir una optimización adicional de la eficacia de la inhibición "desplazando la ventana" progresivamente un nucleótido hacia adelante o hacia atrás en las secuencias determinadas para identificar secuencias con unas características de inhibición iguales o mejores.

Adicionalmente, se contempla que para cualquier secuencia identificada, p. ej., en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10, se puede conseguir una optimización adicional añadiendo o eliminando nucleótidos de forma sistemática para generar secuencias más largas o más cortas y evaluando estas secuencias y secuencias generadas desplazando una ventana

del tamaño más largo o más corto hacia adelante o hacia atrás en el ARN diana a partir de ese punto. Nuevamente, el acoplamiento de esta estrategia para generar nuevas dianas candidato con la evaluación para determinar la eficacia de los ARNi basándose en estas secuencias diana en un ensayo de inhibición como los que se conocen en la técnica o como los que se describen en la presente puede proporcionar mejoras adicionales en la eficacia de la inhibición. Es más, tales secuencias optimizadas se pueden ajustar mediante, p. ej., la introducción de nucleótidos modificados como los que se describen en la presente o como los que se conocen en la técnica, la adición o la introducción de cambios en la protuberancia u otras modificaciones como las que se conocen en la técnica y/o se describen en la presente para optimizar adicionalmente la molécula (p. ej., incrementar la estabilidad en suero o la semivida en circulación, incrementar la estabilidad térmica, potenciar el suministro transmembranal, ejercer un direccionamiento hacia una localización o tipo celular particular, incrementar la interacción con las enzimas de la vía de silenciamiento, incrementar la liberación a partir de endosomas, etc.) como un inhibidor de la expresión.

Un ARNi según se describe en la presente puede contener uno o más apareamientos erróneos con la secuencia

diana. En una realización, un ARNi, tal como se describe en la presente, no contiene más de 3 apareamientos erróneos. Si la hebra antisentido del ARNi contiene apareamientos erróneos con una secuencia diana, es preferible que el área de apareamiento erróneo no se encuentre localizada en el centro de la región de complementariedad. Si la hebra antisentido del ARNi contiene apareamientos erróneos con la secuencia diana, es preferible que el apareamiento erróneo esté restringido a encontrarse dentro de los últimos 5 nucleótidos considerados desde el extremo 5' o 3' de la región de complementariedad. Por ejemplo, para una hebra de ARN de un agente de ARNi de 23 nucleótidos que sea complementaria respecto a una región de un gen LECT2, la hebra de ARN generalmente no contendrá ningún apareamiento erróneo dentro de los 13 nucleótidos centrales. Los métodos descritos en la presente o los métodos conocidos en la técnica se pueden utilizar para determinar si un ARNi que contiene un apareamiento erróneo con una secuencia diana es eficaz a la hora de inhibir la expresión de un gen LECT2. La consideración de la eficacia de ARNi con apareamientos erróneos a la hora de inhibir la expresión de un gen LECT2 es importante, especialmente si existe constancia de que la región de complementariedad particular de un gen LECT2 presente una variación de la secuencia polimórfica dentro de la población.

En una realización, al menos un extremo de un ARNbc tiene una protuberancia de nucleótidos monocatenaria de 1 a 4, generalmente 1 o 2, nucleótidos. Los ARNbc que tienen al menos una protuberancia de nucleótidos presentan, inesperadamente, unas propiedades inhibitorias superiores con relación a sus homólogos de extremos romos. En otra realización más, el ARN de un ARNi (p. ej., un ARNbc) se modifica químicamente para mejorar su estabilidad u otras características beneficiosas. Los ácidos nucleicos que se exponen en la invención se pueden sintetizar y/o modificar mediante métodos muy establecidos en la técnica tales como los que se describen en “Current protocols in nucleic acid chemistry,” Beaucage, S.L. *et al*. (Eds.), John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, NY, EE. UU., que se incorpora a la presente por referencia. Las modificaciones incluyen, por ejemplo, (a) modificaciones de los extremos, p. ej., modificaciones del extremo 5' (fosforilación, conjugación, uniones invertidas, etc.), modificaciones del extremo 3' (conjugación, nucleótidos de ADN, uniones invertidas, etc.) (b) modificaciones de las bases, p. ej., reemplazo por bases estabilizantes, bases desestabilizantes o bases que se apareen con bases con un mayor repertorio de parejas, eliminación de bases (nucleótidos sin bases), o bases conjugadas, (c) modificaciones del azúcar (p. ej., en la posición 2' o en la posición 4', o que tienen un azúcar

acíclico) o reemplazo del azúcar, así como también (d) modificaciones del esqueleto, que incluyen la modificación o el reemplazo de las uniones de tipo fosfodiéster. Los ejemplos específicos de compuestos de ARN útiles en esta invención incluyen, sin carácter limitante, ARN que contienen esqueletos modificados o uniones entre nucleósidos no naturales. Los ARN que tienen esqueletos modificados incluyen, entre otros, aquellos que no contienen un átomo de fósforo en el esqueleto. A los efectos de esta memoria descriptiva y según se los denomina en ocasiones en la técnica, los ARN modificados que no contienen un átomo de fósforo en su esqueleto entre los nucleósidos también se pueden considerar oligonucleósidos. En realizaciones particulares, el ARN modificado contendrá un átomo de fósforo en su esqueleto entre los nucleósidos.

Los esqueletos de ARN modificados incluyen, por ejemplo, fosforotioatos, fosforotioatos quirales, fosforoditioatos, fosfotriésteres, aminoalquilfosfotriésteres, metilfosfonatos y fosfonatos con otros grupos alquilo que incluyen 3'-alquilenfosfonatos y fosfonatos quirales, fosfinatos, fosforamidatos que incluyen 3'-aminofosforamidato y aminoalquilfosforamidatos, tionofosforamidatos, tionoalquilfosfonatos, tionoalquilfosfotriésteres y boranofosfatos con uniones 3'-5' normales, análogos con uniones 2'-5' de estos y aquellos

con polaridad invertida en los que los pares adyacentes de unidades de nucleósidos están unidos del siguiente modo: 3'-5' con 5'-3' o 2'-5' con 5'-2'. También se incluyen varias sales, sales mixtas y formas de ácido libre.

Las patentes de EE. UU. representativas que describen la preparación de las uniones que contienen fósforo anteriores incluyen, sin carácter limitante, las Pat. de EE. UU. N.os 3.687.808, 4.469.863, 4.476.301, 5.023.243, 5.177.195, 5.188.897, 5.264.423, 5.276.019, 5.278.302, 5.286.717, 5.321.131, 5.399.676, 5.405.939, 5.453.496, 5.455.233, 5.466.677, 5.476.925, 5.519.126, 5.536.821, 5.541.316, 5.550.111, 5.563.253, 5.571.799, 5.587.361, 5.625.050, 6.028.188, 6.124.445, 6.160.109, 6.169.170, 6.172.209, 6.239.265, 6.277.603, 6.326.199, 6.346.614, 6.444.423, 6.531.590, 6.534.639, 6.608.035, 6.683.167, 6.858.715, 6.867.294, 6.878.805, 7.015.315, 7.041.816, 7.273.933, 7.321.029 y la Pat. de EE. UU. RE39464, cada una de las cuales se incorpora a la presente por referencia.

Los esqueletos de ARN modificados que no incluyen ningún átomo de fósforo en ellos tienen esqueletos que se forman mediante uniones entre nucleósidos de tipo alquilo o cicloalquilo de cadena corta, uniones entre nucleósidos de tipo alquilo o cicloalquilo y heteroátomos mixtas, o una o más uniones entre nucleósidos heteroaromáticas o heterocíclicas de cadena corta. Estos incluyen los que

tienen uniones de tipo morfolino (formadas en parte a partir de la porción del azúcar de un nucleósido); esqueletos de tipo siloxano; esqueletos de tipo sulfuro, sulfóxido y sulfona; esqueletos de tipo formacetilo y tioformacetilo; esqueletos de tipo metilenformacetilo y tioformacetilo; esqueletos que contienen alquenos; esqueletos de tipo sulfamato; esqueletos de tipo metilenimino y metilenhidrazino; esqueletos de tipo sulfonato y sulfonamida; esqueletos de tipo amida; y otros que tienen partes de componentes N, O, S y CH_2 mixtas.

Las patentes de EE. UU. representativas que describen la preparación de los oligonucleótidos anteriores incluyen, sin carácter limitante, las Pat. de EE. UU. N.ºs 5.034.506, 5.166.315, 5.185.444, 5.214.134, 5.216.141, 5.235.033, 5.64.562, 5.264.564, 5.405.938, 5.434.257, 5.466.677, 5.470.967, 5.489.677, 5.541.307, 5.561.225, 5.596.086, 5.602.240, 5.608.046, 5.610.289, 5.618.704, 5.623.070, 5.663.312, 5.633.360, 5.677.437 y 5.677.439, cada una de las cuales se incorpora a la presente por referencia.

En otros miméticos de ARN adecuados o contemplados para su uso en ARNi, tanto el azúcar como la unión entre nucleósidos, es decir, el esqueleto, de las unidades nucleotídicas se reemplazan por grupos novedosos. Las unidades de las bases se mantienen para la hibridación con un compuesto diana de tipo ácido nucleico adecuado. Un

compuesto oligomérico de este tipo, un mimético de ARN que se ha demostrado que presenta unas propiedades de hibridación excelentes, se denomina ácido nucleico peptídico (PNA). En los compuestos de tipo PNA, el esqueleto del azúcar de un ARN se ha reemplazado por un esqueleto que contiene amidas, en particular un esqueleto de tipo aminoetilglicina. Las bases nucleotídicas se conservan y están unidas directa o indirectamente a átomos de nitrógeno aza de la porción amídica del esqueleto. Las patentes de EE. UU. representativas que describen la preparación de compuestos de tipo PNA incluyen, sin carácter limitante, las Pat. de EE. UU. N.ºs 5.539.082, 5.714.331 y 5.719.262, cada una de las cuales se incorpora a la presente por referencia. Otras descripciones de compuestos de tipo PNA se pueden encontrar, por ejemplo, en Nielsen *et al.*, *Science*, 1991, 254, 1497-1500.

Algunas realizaciones que se exponen en la invención incluyen ARN con esqueletos de tipo fosforotioato y oligonucleósidos con esqueletos que contienen heteroátomos, y en particular --CH_2--NH--CH_2--, --CH_2--N(CH_3)--O--CH_2--[que se conoce como un esqueleto de tipo metilen(metilimino) o MMI], --CH_2--O--N(CH_3)--CH_2--, --CH_2--N(CH_3)--N(CH_3)--CH_2-- y --N(CH_3)--CH_2--CH_2--[donde el esqueleto de tipo fosfodiéster nativo se representa como --O--P--O--CH_2--] de la Pat. de EE. UU. N.o 5.489.677 a la

que se ha hecho referencia anteriormente y los esqueletos de tipo amida de la Pat. de EE. UU. N.º 5.602.240 a la que se ha hecho referencia anteriormente. En algunas realizaciones, los ARN que se exponen en la presente tienen las estructuras del esqueleto de tipo morfolino de la Pat. de EE. UU. N.º 5.036.506 a la que se ha hecho referencia anteriormente.

Los ARN modificados también pueden contener uno o más restos de azúcar sustituidos. Los ARNi, p. ej., ARNbc que se exponen en la presente pueden incluir uno de los siguientes grupos en la posición 2': OH; F; O-, S- o N-alquilo; O-, S- o N-alquenilo; O-, S- o N-alquinilo; o O-alquil-O-alquilo, donde el alquilo, alquenilo y alquinilo pueden ser un alquilo C_1-C_{10}, alquenilo y alquinilo C_2-C_{10} sustituido o no sustituido. Las modificaciones adecuadas ilustrativas incluyen $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$, $O(CH_2)._nOCH_3$, $O(CH_2)_nNH_2$, $O(CH_2)_nCH_3$, $O(CH_2)_nONH_2$ y $O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3)]_2$, donde n y m están comprendidos entre 1 y aproximadamente 10. En otras realizaciones, los ARNbc incluyen uno de los siguientes grupos en la posición 2': alquilo inferior C_1-C_{10}, alquilo inferior sustituido, alcarilo, aralquilo, O-alcarilo u O-aralquilo, SH, SCH_3, OCN, Cl, Br, CN, CF_3, OCF_3, $SOCH_3$, SO_2CH_3, ONO_2, NO_2, N_3, NH_2, heterocicloalquilo, heterocicloalcarilo, aminoalquilamino, polialquilamino, sililo sustituido, un grupo que escinde ARN, un grupo

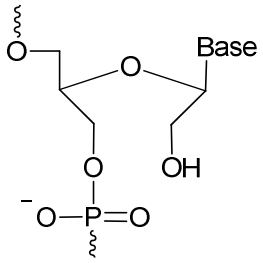
marcador, un intercalador, un grupo para mejorar las propiedades farmacocinéticas de un ARNi o un grupo para mejorar las propiedades farmacodinámicas de un ARNi, y otros sustituyentes con propiedades similares. En algunas realizaciones, la modificación incluye un 2'-metoxietoxi (2'-O--$CH_2CH_2OCH_3$, también conocido como 2'-O-(2-metoxietilo) o 2'-MOE) (Martin *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504), es decir, un grupo alcoxi-alcoxi. Otra modificación ilustrativa es 2'-dimetilaminooxietoxi, es decir, un grupo $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$, también conocido como 2'-DMAOE, y 2'-dimetilaminoetoxietoxi (que también se conoce en la técnica como 2'-O-dimetilaminoetoxietilo o 2'-DMAEOE), es decir, 2'-O--CH_2--O--CH_2--$N(CH_2)_2$.

En otras realizaciones, un agente de ARNi comprende uno o más (p. ej., alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más) nucleótidos (o nucleósidos) acíclicos. En ciertas realizaciones, la hebra sentido o la hebra antisentido, o tanto la hebra sentido como la hebra antisentido, incluye menos de cinco nucleótidos acíclicos por hebra (p. ej., cuatro, tres, dos o un nucleótido acíclico por hebra). El uno o más nucleótidos acíclicos se pueden encontrar, por ejemplo, en la región bicatenaria, de la hebra sentido o antisentido, o en ambas hebras; en el extremo 5', el extremo 3', tanto en los extremos 5' como 3' de la hebra sentido o antisentido, o en ambas hebras, del agente de

ARNi. En una realización, uno o más nucleótidos acíclicos están presentes en las posiciones 1 a 8 de la hebra sentido o antisentido, o en ambas. En una realización, uno o más nucleótidos acíclicos se encuentran en la hebra antisentido en posiciones 4 a 10 (p. ej., posiciones 6-8) del extremo 5’ de la hebra antisentido. En otra realización, el uno o más nucleótidos acíclicos se encuentran en una o ambas protuberancias 3’-terminales del agente de ARNi.

La expresión “nucleótido acíclico” o “nucleósido acíclico”, como se usa en la presente, se refiere a cualquier nucleótido o nucleósido que tiene un azúcar acíclico, p. ej., una ribosa acíclica. Un nucleótido o nucleósido acíclico ejemplar puede incluir una nucleobase, p. ej., una nucleobase de origen natural o una nucleobase modificada (p. ej., una nucleobase como se describe en la presente). En ciertas realizaciones, un enlace entre cualquiera de los carbonos de ribosa (C1, C2, C3, C4, o C5), está independientemente o en combinación ausente del nucleótido. En una realización, el enlace entre los carbonos C2-C3 del anillo de ribosa está ausente, p. ej., un monómero 2’-3’-seco-nucleótido acíclico. En otras realizaciones, el enlace entre C1-C2, C3-C4, o C4-C5 está ausente (p. ej., un monómero 1’-2’, 3'-4' o 4’-5’-seco nucleótido). Los nucleótidos acíclicos ejemplares se describen en el documento US 8.314.227, incorporado aquí

como referencia en su totalidad. Por ejemplo, un nucleótido acíclico puede incluir cualquiera de los monómeros D-J en las Figuras 1-2 del documento US 8.314.227. En una realización, el nucleótido acíclico incluye el siguiente monómero:



donde Base es una nucleobase, p. ej., una nucleobase de origen natural o una nucleobase modificada (p. ej., una nucleobase como se describe en la presente).

En ciertas realizaciones, el nucleótido acíclico se puede modificar o derivatizar, p. ej., acoplando el nucleótido acíclico a otro resto, p. ej., un ligando (p. ej., un GalNAc, un ligando de colesterol), un alquilo, una poliamina, un azúcar, un polipéptido, entre otros.

En otras realizaciones, el agente de ARNi incluye uno o más nucleótidos acíclicos y uno o más LNAs (p. ej., un LNA como se describe en la presente). Por ejemplo, uno o más nucleótidos acíclicos y/o uno o más LNAs pueden estar presentes en la hebra sentido, la hebra antisentido, o en ambas. El número de nucleótidos acíclicos en una hebra puede ser el mismo o diferente del número de LNAs en la hebra opuesta. En ciertas realizaciones, la hebra sentido

y/o la hebra antisentido comprenden menos de cinco LNAs (p. ej., cuatro, tres, dos o un LNA) situados en la región bicatenaria o una protuberancia de 3’. En otras realizaciones, uno o dos LNAs están situados en la región bicatenaria o la protuberancia de 3’ de la hebra sentido. Como alternativa, o en combinación, la hebra sentido y/o hebra antisentido comprenden menos de cinco nucleótidos acíclicos (p. ej., cuatro, tres, dos o un nucleótido acíclico) en la región bicatenaria o una protuberancia de 3’. En una realización, la hebra sentido del agente de ARNi comprende uno o dos LNAs en la protuberancia de 3’ de la hebra sentido, y uno o dos nucleótidos acíclicos en la región bicatenaria de la hebra antisentido (p. ej., en las posiciones 4 a 10 (p. ej., posiciones 6-8) del extremo 5’ de la hebra antisentido) del agente de ARNi.

En otras realizaciones, la inclusión de uno o más nucleótidos acíclicos (solos o además de uno o más LNAs) en el agente de ARNi da como resultado uno o más (o todos) de: (i) una reducción de un efecto fuera de diana; (ii) una reducción en la participación de la hebra pasajera en iARN; (iii) un incremento en la especificidad de la hebra guía por su ARNm diana; (iv) una reducción en un efecto fuera de diana de microARN; (v) un incremento en la estabilidad; o (vi) un incremento en la resistencia a la degradación de la molécula de ARNi.

Otras modificaciones incluyen 2'-metoxi (2'-OCH_3), 2'-aminopropoxi (2'-$OCH_2CH_2CH_2NH_2$) y 2'-fluoro (2'-F). También se pueden realizar modificaciones similares en otras posiciones del ARN de un ARNi, particularmente la posición 3' del azúcar en el nucleótido terminal 3' o en ARNbc con uniones 2'-5' y la posición 5' del nucleótido terminal 5'. Los ARNi también pueden tener miméticos de azúcares tales como restos de tipo ciclobutilo en lugar del azúcar de tipo pentofuranosilo. Las patentes de EE. UU. representativas que describen la preparación de tales estructuras de azúcares modificadas incluyen, sin carácter limitante, las Pat. de EE. UU. N.os 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, 5.658.873, 5.670.633 y 5.700.920, algunas de las cuales son de propiedad compartida con la presente solicitud y cada una de las cuales se incorpora a la presente por referencia.

Un ARNi también puede incluir sustituciones o modificaciones en la base nucleotídica (a la cual se hace referencia a menudo en la técnica simplemente como "base"). Las bases nucleotídicas "naturales" o "no modificadas", según se utilizan en la presente, incluyen las bases púricas adenina (A) y guanina (G), y las bases pirimidínicas timina (T), citosina (C) y uracilo (U). Las

bases nucleotídicas modificadas incluyen otras bases nucleotídicas naturales y sintéticas tales como 5-metilcitosina (5-me-C), 5-hidroximetilcitosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-metiladenina y 6-metilguanina y otros derivados alquílicos de la adenina y la guanina, 2-propiladenina y 2-propilguanina y otros derivados alquílicos de la adenina y la guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2-tiocitosina, 5-halouracilo y 5-halocitosina, 5-propiniluracilo y 5-propinilcitosina, 6-azouracilo, 6-azocitosina y 6-azotimina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo-, 8-amino-, 8-tiol-, 8-tioalquil-, 8-hidroxil-adenina y -guanina y adeninas y guaninas con otros sustituyentes en la posición 8, 5-halo-, particularmente 5-bromo-, 5-trifluorometil-uracilo y -citosina y uracilos y citosinas con otros sustituyentes en la posición 5, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-desazaguanina y 7-desazaadenina y 3-desazaguanina y 3-desazaadenina. Otras bases nucleotídicas incluyen las que se describen en la Pat. de EE. UU. N.º 3.687.808, las que se describen en *Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine*, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008; las que se describen en *The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering*, páginas 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990, las que se describen en Englisch

et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613 y las que se describen en Sanghvi, Y S., Capítulo 15, *dsRNA Research and Applications*, páginas 289-302, Crooke, S. T. y Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993. Algunas de estas bases nucleotídicas son particularmente útiles para incrementar la afinidad de unión de los compuestos oligoméricos que se exponen en la invención. Estas incluyen pirimidinas sustituidas en la posición 5, 6-azapirimidinas y purinas sustituidas en la posición N-2, N-6 y 0-6, que incluyen 2-aminopropiladenina, 5-propiniluracilo y 5-propinilcitosina. Se ha demostrado que las sustituciones de tipo 5-metilcitosina incrementan la estabilidad del dúplex de ácido nucleico de 0.6 a 1.2 °C (Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. y Lebleu, B., Eds., *dsRNA Research and Applications*, CRC Press, Boca Ratón, 1993, págs. 276-278) y son sustituciones de las bases ilustrativas, aún más particularmente cuando se combinan con modificaciones del azúcar de tipo 2'-O-metoxietilo.

Las patentes de EE. UU. representativas que describen la preparación de algunas de las bases nucleotídicas modificadas mencionadas anteriormente, así como también de otras bases nucleotídicas modificadas incluyen, sin carácter limitante, la Pat. de EE. UU. mencionada anteriormente N.º 3.687.808, así como también las Pat. de EE. UU. N.ºs 4.845.205, 5.130.30, 5.134.066, 5.175.273,

5.367.066, 5.432.272, 5.457.187, 5.459.255, 5.484.908, 5.502.177, 5.525.711, 5.552.540, 5.587.469, 5.594.121, 5.596.091, 5.614.617, 5.681.941, 6.015.886, 6.147.200, 6.166.197, 6.222.025, 6.235.887, 6.380.368, 6.528.640, 6.639.062, 6.617.438, 7.045.610, 7.427.672 y 7.495.088, cada una de las cuales se incorpora a la presente por referencia, y la Pat. de EE. UU. N.º 5.750.692, que también se incorpora a la presente por referencia.

El ARN de un ARNi también se puede modificar para que incluya uno o más (p. ej., alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más) ácidos nucleicos bloqueados (LNA, por sus siglas en inglés) (también denominados en la presente como “nucleótidos bloqueados”). En una realización, un ácido nucleico bloqueado es un nucleótido que tiene un resto de ribosa modificado en el cual el resto de ribosa comprende un puente adicional que conecta p. ej. los carbonos 2' y 4'. Esta estructura "bloquea" de forma eficaz la ribosa en la conformación estructural 3'-endo. Se ha demostrado que la adición de ácidos nucleicos bloqueados a los ARNip incrementa la estabilidad del ARNip en suero, incrementa la estabilidad térmica, y reduce los efectos laterales (Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193).

Las Patentes de EE. UU. representativas que describen la preparación de ácidos nucleicos bloqueados incluyen, sin carácter limitante, las siguientes: Pat. de EE. UU. N.os 6.268.490, 6.670.461, 6.794.499, 6.998.484, 7.053.207, 7.084.125, 7.399.845, y 8.314.227, cada una de las cuales se incorpora a la presente por referencia en su totalidad. Los LNAs ejemplares incluyen pero no se limitan a un nucleótido biciclo metilénico 2', 4'-C (remítase a por ejemplo Wengel *et al.,* Publicación PCT Internacional No. WO 00/66604 y WO 99/14226).

En otras realizaciones, los agentes de ARNi incluyen uno o más (p. ej., alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más) nucleótidos de tenazas de G. Un nucleótido de tenaza de G es un análogo de citosina modificado en el que las modificaciones confieren la capacidad para enlazar mediante hidrógeno las caras tanto de Watson-Crick como de Hoogsteen de una guanina complementaria en un dúplex, remítase a por ejemplo Lin y Matteucci, 1998, *J. Am. Chem. Soc.,* 120, 8531-8532. Una sustitución de un análogo de tenaza de G individual en un oligonucleótido puede dar como resultado la estabilidad térmica helicoidal sustancialmente potenciada y la discriminación del apareamiento erróneo cuando se hibrida a oligonucleótidos complementarios. La inclusión de tales nucleótidos en las moléculas de ARNi puede dar como resultado afinidad y especificidad

potenciadas por dianas de ácido nucleico, secuencias complementarias, o hebras molde.

Las modificaciones potencialmente estabilizantes en los extremos de las moléculas de ARN pueden incluir *N*-(acetilaminocaproil)-4-hidroxiprolinol (Hip-C6-NHAc), *N*-(caproil-4-hidroxiprolinol (Hip-C6), *N*-(acetil-4-hidroxiprolinol (Hip-NHAc), timidin-2'-O-desoxitimidina (éter), *N*-(aminocaproil)-4-hidroxiprolinol (Hip-C6-amino), 2-docosanoiluridin-3"- fosfato, base dT invertida (idT) y otras. La descripción de esta modificación se puede encontrar en la Publicación de PCT N.º WO 2011/005861.

Motivos del ARNi

En una realización, la secuencia de la hebra sentido se puede representar mediante la fórmula (I):

$$5'\ n_p\text{-}N_a\text{-}(X\ X\ X)_i\text{-}N_b\text{-}Y\ Y\ Y\text{-}N_b\text{-}(Z\ Z\ Z)_j\text{-}N_a\text{-}n_q\ 3' \quad (I)$$

donde:

i y j son cada uno independientemente 0 o 1;

p y q son cada uno independientemente 0-6;

cada N_a representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-25 nucleótidos modificados, comprendiendo cada secuencia al menos dos nucleótidos modificados de forma diferente;

cada N_b representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10 nucleótidos modificados;

cada n_p y n_q representa independientemente un nucleótido protuberante;

donde N_b e Y no tienen la misma modificación; y

XXX, YYY y ZZZ representan cada uno independientemente un motivo de tres modificaciones idénticas en tres nucleótidos consecutivos. Preferentemente, YYY son todos nucleótidos con la modificación 2’-F.

En una realización, N_a y/o N_b comprenden modificaciones de patrón alterno.

En una realización, el motivo YYY se encuentra en el sitio de escisión de la hebra sentido o cerca de este. Por ejemplo, cuando el agente de iARN tiene una región dúplex con una longitud de 17-23 nucleótidos, el motivo YYY se puede encontrar en el sitio de escisión o cerca de este (p. ej.: se puede encontrar en las posiciones 6, 7, 8; 7, 8, 9; 8, 9, 10; 9, 10, 11; 10, 11, 12 u 11, 12, 13) de la hebra sentido, empezando a contar a partir del primer nucleótido del extremo 5' u, opcionalmente, empezando a contar en el primer nucleótido apareado dentro de la región dúplex, a partir del extremo 5'.

En una realización, i es 1 y j es 0, o i es 0 y j es 1, o tanto i como j son 1. Por consiguiente, la hebra sentido se puede representar mediante las siguientes fórmulas:

5' n_p-N_a-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3' (Ib);

5' n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_a-n_q 3' (Ic); o

5' n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3' (Id).

Cuando la hebra sentido se representa mediante la fórmula (Ib), N_b representa una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 o 0 nucleótidos modificados. Cada N_a puede representar independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

Cuando la hebra sentido se representa como la fórmula (Ic), N_b representa una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 o 0 nucleótidos modificados. Cada N_a puede representar independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

Cuando la hebra sentido se representa como la fórmula (Id), cada N_b representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 o 0 nucleótidos modificados. Preferentemente, N_b es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6. Cada N_a puede representar independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

Cada uno de los grupos X, Y y Z puede ser igual o diferente de los demás.

En otras realizaciones, i es 0 y j es 0, y la hebra sentido se puede representar mediante la fórmula:

5' n_p-N_a-YYY- N_a-n_q 3' (Ia).

Cuando la hebra sentido se representa mediante la fórmula (Ia), cada N_a puede representar independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

En una realización, la secuencia de la hebra antisentido del ARNi se puede representar mediante la fórmula (II):

5' $n_{q'}$-N_a'-(Z'Z'Z')$_k$-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-(X'X'X')$_l$-N'_a-n_p' 3' (II)

donde:

k y l son cada uno independientemente 0 o 1;

p' y q' son cada uno independientemente 0-6;

cada N_a' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-25 nucleótidos modificados, comprendiendo cada secuencia al menos dos nucleótidos modificados de forma diferente;

cada N_b' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10 nucleótidos modificados;

cada n_p' y n_q' representa independientemente un nucleótido protuberante;

donde N_b' e Y' no tienen la misma modificación;

y

X′X′X′, Y′Y′Y′ y Z′Z′Z′ representan cada uno independientemente un motivo de tres modificaciones idénticas en tres nucleótidos consecutivos.

En una realización, N_a' y/o N_b' comprenden modificaciones de patrón alterno.

El motivo Y′Y′Y′ se encuentra en el sitio de escisión de la hebra antisentido o cerca de este. Por ejemplo, cuando el agente de iARN tiene una región dúplex con una longitud de 17-23 nucleótidos, el motivo Y′Y′Y se puede encontrar en las posiciones 9, 10, 11; 10, 11, 12; 11, 12, 13; 12, 13, 14 o 13, 14, 15 de la hebra antisentido, empezando a contar a partir del primer nucleótido del extremo 5' u, opcionalmente, empezando a contar en el primer nucleótido apareado dentro de la región dúplex, a partir del extremo 5'. Preferentemente, el motivo Y′Y′Y′ se encuentra en las posiciones 11, 12, 13.

En una realización, el motivo Y′Y′Y′ consiste en que todos los nucleótidos presentan la modificación 2′-OMe.

En una realización, k es 1 y l es 0, o k es 0 y l es 1, o tanto k como l son 1.

Por consiguiente, la hebra antisentido se puede representar mediante las siguientes fórmulas:

5' $n_{q'}$-N_a′-Z′Z′Z′-N_b′-Y′Y′Y′-N_a′-$n_{p'}$ 3' (IIb);

5' $n_{q'}$-N_a′-Y′Y′Y′-N_b′-X′X′X′-$n_{p'}$ 3' (IIc); o

5' $n_{q'}$-N_a'- Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'- X'X'X'-N_a'-$n_{p'}$ 3' (IId).

Cuando la hebra antisentido se representa mediante la fórmula (IIb), N_b' representa una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 o 0 nucleótidos modificados. Cada N_a' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

Cuando la hebra antisentido se representa como la fórmula (IIc), N_b' representa una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 o 0 nucleótidos modificados. Cada N_a' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

Cuando la hebra antisentido se representa como la fórmula (IId), cada N_b' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 o 0 nucleótidos modificados. Cada N_a' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados. Preferentemente, N_b es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6.

En otras realizaciones, k es 0 y l es 0, y la hebra antisentido se puede representar mediante la fórmula:

5' $n_{p'}$-$N_{a'}$-Y'Y'Y'- $N_{a'}$-$n_{q'}$ 3' (Ia).

Cuando la hebra antisentido se representa como la fórmula (IIa), cada N_a' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

Cada uno de los grupos X', Y' y Z' puede ser igual o diferente de los demás.

Cada nucleótido de la hebra sentido y la hebra antisentido se puede modificar independientemente con LNA, HNA, CeNA, 2′-metoxietilo, 2′-O-metilo, 2′-O-alilo, 2′-C-alilo, 2′-hidroxilo o 2′-fluoro. Por ejemplo, cada nucleótido de la hebra sentido y la hebra antisentido se modifica independientemente con 2′-O-metilo o 2′-fluoro. Cada X, Y, Z, X′, Y′ y Z′, en particular, puede representar una modificación de tipo 2′-O-metilo o una modificación de tipo 2′-fluoro.

En una realización, la hebra sentido del agente de iARN puede contener un motivo YYY que se encuentre en las posiciones 9, 10 y 11 de la hebra cuando la región dúplex tiene 21 nt, empezando a contar a partir del primer nucleótido del extremo 5' u, opcionalmente, empezando a contar en el primer nucleótido apareado dentro de la región dúplex, a partir del extremo 5'; e Y representa una modificación de tipo 2′-F. La hebra sentido puede contener adicionalmente un motivo XXX o motivos ZZZ como modificaciones laterales en el extremo opuesto de la región

dúplex; y cada motivo XXX y ZZZ representa independientemente una modificación de tipo 2′-OMe o una modificación de tipo 2′-F.

En una realización, la hebra antisentido puede contener un motivo Y′Y′Y′ que se encuentre en las posiciones 11, 12, 13 de la hebra, empezando a contar a partir del primer nucleótido del extremo 5' u, opcionalmente, empezando a contar en el primer nucleótido apareado dentro de la región dúplex, a partir del extremo 5'; e Y' representa una modificación de tipo 2′-O-metilo. La hebra antisentido puede contener adicionalmente un motivo X′X′X′ o motivos Z′Z′Z′ como modificaciones laterales en el extremo opuesto de la región dúplex; y cada motivo X′X′X′ y Z′Z′Z′ representa independientemente una modificación de tipo 2′-OMe o una modificación de tipo 2′-F.

La hebra sentido representada mediante cualquiera de las fórmulas anteriores (Ia), (Ib), (Ic) y (Id) forma un dúplex con una hebra antisentido representada mediante cualquiera de las fórmulas (IIa), (IIb), (IIc) y (IId), respectivamente.

Por consiguiente, los agentes de iARN que se pueden utilizar en los métodos de la invención pueden comprender una hebra sentido y una hebra antisentido, teniendo cada

hebra 14-30 nucleótidos, donde el dúplex de iARN está representado mediante la fórmula (III):

sentido: 5' n_p -N_a-(X X X)$_i$ -N_b- Y Y Y -N_b -(Z Z Z)$_j$-N_a-n_q 3'

antisentido: 3' n_p'-N_a'-(X'X'X')$_k$-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-(Z'Z'Z')$_l$-N_a'-n_q' 5'

(III)

donde:

i, j, k, y l son cada uno independientemente 0 o 1;

p, p', q y q' son cada uno independientemente 0-6;

cada N_a y N_a' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-25 nucleótidos modificados, comprendiendo cada secuencia al menos dos nucleótidos modificados de forma diferente;

cada N_b y N_b' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10 nucleótidos modificados;

donde

cada n_p', n_p, n_q' y n_q, cada uno de los cuales puede estar presente o no, representa independientemente un nucleótido protuberante; y

XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' y Z'Z'Z' representan cada uno independientemente un motivo de tres modificaciones idénticas en tres nucleótidos consecutivos.

En una realización, i es 0 y j es 0; o i es 1 y j es 0; o i es 0 y j es 1; o tanto i como j son 0; o tanto i como j son 1. En otra realización, k es 0 y l es 0; o k es 1 y l es 0; o k es 0 y l es 1; o tanto k como l son 0; o tanto k como l son 1.

Las combinaciones ilustrativas de la hebra sentido y la hebra antisentido para formar un dúplex de iARN incluyen las fórmulas siguientes:

5' n_p - N_a -Y Y Y -N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-Y'Y'Y' -$N_a'n_q'$ 5'

(IIIa)

5' n_p -N_a -Y Y Y -N_b -Z Z Z -N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-$N_a'n_q'$ 5'

(IIIb)

5' n_p-N_a- X X X -N_b -Y Y Y - N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q' 5'

(IIIc)

5' n_p -N_a -X X X -N_b-Y Y Y -N_b- Z Z Z -N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-N_a-n_q' 5'

(IIId)

Cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (IIIa), cada N_a representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

Cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (IIIb), cada N_b representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 1-10, 1-7, 1-5 o 1-4 nucleótidos modificados. Cada N_a representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

Cuando el agente de iARN se representa como la fórmula (IIIc), cada N_b, N_b' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 o 0 nucleótidos modificados. Cada N_a representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados.

Cuando el agente de iARN se representa como la fórmula (IIId), cada N_b, N_b' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 o 0 nucleótidos modificados. Cada N_a, N_a' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 2-20, 2-15 o 2-10 nucleótidos modificados. Cada uno de los grupos N_a, N_a', N_b y N_b' comprende independientemente modificaciones de patrón alterno.

Cada uno de los grupos X, Y y Z en las fórmulas (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) y (IIId) puede ser igual o diferente de los demás.

Cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) y (IIId), al menos uno de los nucleótidos Y puede formar un par de bases con uno de los nucleótidos Y′. Como alternativa, al menos dos de los nucleótidos Y forman pares de bases con los nucleótidos Y′ correspondientes; o los tres nucleótidos Y forman todos ellos pares de bases con los nucleótidos Y′ correspondientes.

Cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (IIIb) o (IIId), al menos uno de los nucleótidos Z puede formar un par de bases con uno de los nucleótidos Z′. Como alternativa, al menos dos de los nucleótidos Z forman pares de bases con los nucleótidos Z′ correspondientes; o los tres nucleótidos Z forman todos ellos pares de bases con los nucleótidos Z′ correspondientes.

Cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (IIIc) o (IIId), al menos uno de los nucleótidos X puede formar un par de bases con uno de los nucleótidos X′. Como alternativa, al menos dos de los nucleótidos X forman pares de bases con los nucleótidos X′ correspondientes; o los tres nucleótidos X forman todos ellos pares de bases con los nucleótidos X′ correspondientes.

En una realización, la modificación en el nucleótido Y es diferente de la modificación en el nucleótido Y’, la modificación en el nucleótido Z es diferente de la

modificación en el nucleótido Z' y/o la modificación en el nucleótido X es diferente de la modificación el nucleótido X'.

En una realización, cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (IIId), las modificaciones en N_a son modificaciones de tipo 2'-O-metilo o 2'-fluoro. En otra realización, cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (IIId), las modificaciones en N_a son modificaciones de tipo 2'-O-metilo o 2'-fluoro, $n_p' > 0$ y al menos un n_p' está unido a un nucleótido contiguo mediante una unión de tipo fosforotioato. En otra realización más, cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (IIId), las modificaciones en N_a son modificaciones de tipo 2'-O-metilo o 2'-fluoro, $n_p' > 0$ y al menos un n_p' está unido a un nucleótido contiguo mediante una unión de tipo fosforotioato, y la hebra sentido está conjugada con uno o más derivados de tipo GalNAc unidos mediante un conector ramificado bivalente o trivalente. En otra realización, cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (IIId), las modificaciones en N_a son modificaciones de tipo 2'-O-metilo o 2'-fluoro, $n_p' > 0$ y al menos un n_p' está unido a un nucleótido contiguo mediante una unión de tipo fosforotioato, la hebra sentido comprende al menos una unión de tipo fosforotioato y la hebra sentido está

conjugada con uno o más derivados de tipo GalNAc unidos mediante un conector ramificado bivalente o trivalente.

En una realización, cuando el agente de iARN se representa mediante la fórmula (IIIa), las modificaciones en N_a son modificaciones de tipo 2′-O-metilo o 2′-fluoro, $n_p' > 0$ y al menos un n_p' está unido a un nucleótido contiguo mediante una unión de tipo fosforotioato, la hebra sentido comprende al menos una unión de tipo fosforotioato y la hebra sentido está conjugada con uno o más derivados de tipo GalNAc unidos mediante un conector ramificado bivalente o trivalente.

En una realización, el agente de iARN es un multímero que contiene al menos dos dúplex representados mediante la fórmula (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) y (IIId), donde los dúplex están conectados mediante un conector. El conector puede ser escindible o no escindible. Opcionalmente, el multímero comprende además un ligando. Cada uno de los dúplex puede tener como diana el mismo gen o dos genes diferentes, o cada uno de los dúplex puede tener como diana el mismo gen en dos sitios diana diferentes.

En una realización, el agente de iARN es un multímero que contiene tres, cuatro, cinco, seis o más dúplex representados mediante la fórmula (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) y (IIId), donde los dúplex están conectados mediante un conector. El conector puede ser escindible o no

escindible. Opcionalmente, el multímero comprende además un ligando. Cada uno de los dúplex puede tener como diana el mismo gen o dos genes diferentes, o cada uno de los dúplex puede tener como diana el mismo gen en dos sitios diana diferentes.

En una realización, dos agentes de iARN representados mediante la fórmula (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) y (IIId) están unidos el uno con el otro en el extremo 5’, y uno o ambos extremos 3’ están conjugados opcionalmente con un ligando. Cada uno de los agentes puede tener como diana el mismo gen o dos genes diferentes, o cada uno de los agentes puede tener como diana el mismo gen en dos sitios diana diferentes.

Conjugados de ARNi

Los agentes de ARNi descritos en la presente pueden adoptar la forma de conjugados. El conjugado se puede unir en cualquier posición adecuada de la molécula de ARNi, p. ej., en el extremo 3' o el extremo 5' de la hebra sentido o antisentido. Los conjugados se unen opcionalmente mediante un conector.

En algunas realizaciones, un agente de ARNi descrito en la presente está unido químicamente a uno o más ligandos, restos o conjugados, los cuales pueden conferir una funcionalidad, p. ej., ejerciendo un efecto sobre (p. ej., potenciando) la actividad, la distribución celular o

la captación celular del ARNi. Tales restos incluyen, sin carácter limitante, restos lipídicos tales como un resto de colesterol (Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acid. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556), ácido cólico (Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Let.*, 1994, 4:1053-1060), un tioéter, p. ej., beril-*S*-tritiltiol (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306-309; Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Let.*, 1993, 3:2765-2770), un tiocolesterol (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538), una cadena alifática, p. ej., residuos de dodecandiol o undecilo (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J*, 1991, 10:1111-1118; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327-330; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49-54), un fosfolípido, p. ej., dihexadecil-rac-glicerol o 1,2-di-*O*-hexadecil-rac-glicero-3-fosfonato de trietilamonio (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783), una poliamina o una cadena de polietilenglicol (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973) o ácido adamantanacético (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654), un resto de palmitilo (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229-237), o un resto de octadecilamina o hexilaminocarboniloxicolesterol (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937).

En una realización, un ligando altera la distribución, la diana o la vida útil del agente de ARNi en el cual se incorpora. En algunas realizaciones, un ligando proporciona una afinidad mejorada para una diana seleccionada, p. ej., una molécula, una célula o tipo celular, un compartimento, p. ej., un compartimento celular o de un órgano, un tejido, un órgano o una región del cuerpo en comparación, p. ej., con una especie que carezca del ligando. Los ligandos habituales no formarán parte del apareamiento del dúplex en un ácido nucleico que forme un dúplex.

Los ligandos pueden incluir una sustancia de origen natural tal como una proteína (p. ej., albúmina de suero humano (HSA), una lipoproteína de baja densidad (LDL) o globulina); un carbohidrato (p. ej., un dextrano, pululano, chitina, chitosano, inulina, ciclodextrina o ácido hialurónico) o un lípido. El ligando también puede ser una molécula sintética o recombinante tal como un polímero sintético, p. ej., un ácido poliamínico sintético. Los ejemplos de ácidos poliamínicos incluyen una polilisina (PLL), ácido poli-L-aspártico, ácido poli-L-glutámico, copolímero de estireno-anhídrido del ácido maleico, copolímero de poli(L-láctido-co-glicólido), copolímero de éter divinílico-anhídrido maleico, copolímero de *N*-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HMPA), polietilenglicol (PEG), alcohol polivinílico (PVA), poliuretano, ácido poli(2-

etilacrílico), polímeros de *N*-isopropilacrilamida o polifosfazina. Los ejemplos de poliaminas incluyen: polietilenimina, polilisina (PLL), espermina, espermidina, poliamina, pseudopéptido-poliamina, poliamina peptidomimética, poliamina dendrimérica, arginina, amidina, protamina, lípido catiónico, porfirina catiónica, sal cuaternaria de una poliamina o un péptido con hélice α.

Los ligandos también pueden incluir grupos de direccionamiento, p. ej., un agente de direccionamiento hacia una célula o tejido, p. ej., una lectina, glicoproteína, lípido o proteína, p. ej., un anticuerpo, que se une a un tipo celular especificado tal como una célula renal. Un grupo de direccionamiento puede ser una tirotropina, melanotropina, lectina, glicoproteína, proteína A surfactante, carbohidrato de mucina, lactosa multivalente, galactosa multivalente, *N*-acetilgalactosamina, *N*-acetilglucosamina, manosa multivalente, fucosa multivalente, poliaminoácidos glicosilados, galactosa multivalente, transferrina, bisfosfonato, poliglutamato, poliaspartato, un lípido, colesterol, un esteroide, ácido biliar, folato, vitamina B12, biotina, o un péptido RGD o un mimético de un péptido RGD.

En algunas realizaciones, el ligando es un ligando de tipo GalNAc que comprende uno o más derivados de tipo *N*-

acetilgalactosamina (GalNAc). En algunas realizaciones, el ligando de GalNAc se usa para dirigir el ARNi hacia el hígado (p. ej., los hepatocitos). En la sección titulada "Conjugados de carbohidratos" se proporciona una descripción adicional de los ligandos de tipo GalNAc.

Otros ejemplos de ligandos incluyen tintes (p. ej., acridinas), agentes reticulantes (p. ej., psoraleno, mitomicina C), porfirinas (TPPC4, texafirina, Sapfirina), hidrocarburos aromáticos policíclicos (p. ej., fenazina, dihidrofenazina), endonucleasas artificiales (p. ej. EDTA), moléculas lipófilas, p. ej., colesterol, ácido cólico, ácido adamantanacético, ácido 1-pirenobutírico, dihidrotestosterona, 1,3-bis-*O*(hexadecil)glicerol, un grupo geraniloxihexilo, hexadecilglicerol, borneol, mentol, 1,3-propanodiol, un grupo heptadecilo, ácido palmítico, ácido mirístico, ácido O3-(oleoil)litocólico, ácido O3-(oleoil)colénico, dimetoxitritilo o fenoxazina) y conjugados de péptidos (p. ej., péptido antennapedia, péptido Tat), agentes alquilantes, fosfato, amino, mercapto, PEG (p. ej., PEG-40K), MPEG, $[MPEG]_2$, poliamino, alquilo, alquilo sustituido, marcadores radiomarcados, enzimas, haptenos (p. ej., biotina), potenciadores del transporte/la absorción (p. ej., aspirina, vitamina E, ácido fólico), ribonucleasas sintéticas (p. ej., imidazol, bisimidazol, histamina, agregados de imidazol, conjugados

de acridina-imidazol, complejos de tetraazamacrociclos con Eu3+), dinitrofenilo, HRP o AP.

Los ligandos pueden ser proteínas, p. ej., glicoproteínas, o péptidos, p. ej., macromoléculas con una afinidad específica por un coligando, o anticuerpos, p. ej., un anticuerpo que se una a un tipo celular especificado tal como una célula cancerosa, célula endotelial o célula ósea. Los ligandos también pueden incluir hormonas y receptores de hormonas. También pueden incluir especies no peptídicas tales como lípidos, lectinas, carbohidratos, vitaminas, cofactores, lactosa multivalente, galactosa multivalente, *N*-acetilgalactosamina, *N*-acetilglucosamina, manosa multivalente o fucosa multivalente. El ligando puede ser, por ejemplo, un lipopolisacárido, un activador de la cinasa MAP p38 o un activador de NF-κB.

El ligando puede ser una sustancia, p. ej., un fármaco, que puede incrementar la captación del agente de ARNi en la célula, por ejemplo, alterando el citoesqueleto de la célula, p. ej., alterando los microtúbulos, microfilamentos y/o filamentos intermedios de la célula. El fármaco puede ser, por ejemplo, taxon, vincristina, vinblastina, citocalasina, nocodazol, japlaquinolida, latrunculina A, faloidina, swinholida A, indanocina o mioservina.

En algunas realizaciones, un ligando unido a un ARNi según se describe en la presente actúa como un modulador farmacocinético (modulador PK, por sus siglas en inglés). Los moduladores PK incluyen lipófilos, ácidos biliares, esteroides, análogos de fosfolípidos, péptidos, agentes de unión a proteínas, PEG, vitaminas, etc. Los moduladores PK ilustrativos incluyen, sin carácter limitante, colesterol, ácidos grasos, ácido cólico, ácido litocólico, dialquilglicéridos, diacilglicérido, fosfolípidos, esfingolípidos, naproxeno, ibuprofeno, vitamina E, biotina, etc. Existe constancia de que los oligonucleótidos que comprenden una serie de uniones de tipo fosforotioato también se unen a las proteínas del suero, por lo tanto, los oligonucleótidos cortos, p. ej., oligonucleótidos de aproximadamente 5 bases, 10 bases, 15 bases o 20 bases, que comprenden múltiples uniones de tipo fosforotioato en el esqueleto también se pueden utilizar en la presente invención como ligandos (p. ej., como ligandos moduladores PK). Además, los aptámeros que se unen a los componentes del suero (p. ej., proteínas del suero) también son adecuados para ser utilizados como ligandos moduladores PK en las realizaciones descritas en la presente.

Los oligonucleótidos conjugados con ligandos de la invención se pueden sintetizar utilizando un oligonucleótido que contenga una funcionalidad reactiva

como sustituyente, tal como la derivada de la unión de una molécula conectora en el oligonucleótido (que se describe más adelante). Este oligonucleótido reactivo se puede hacer reaccionar directamente con ligandos que se pueden adquirir de proveedores comerciales, ligandos que se sintetizan y que contienen un grupo protector cualquiera de entre una gama de grupos protectores, o ligandos que tienen un resto conector unido a ellos.

Los oligonucleótidos utilizados en los conjugados de la presente invención se pueden preparar de forma conveniente y rutinaria mediante la técnica bien establecida de síntesis en fase sólida. Existen varios proveedores que comercializan el equipo para realizar una síntesis de este tipo, los cuales incluyen, por ejemplo, Applied Biosystems (Foster City, Calif.). Adicionalmente o de forma alternativa, se pueden emplear otros medios para este tipo de síntesis conocidos en la técnica. También existe constancia del uso de técnicas similares para preparar otros oligonucleótidos, tales como los fosforotioatos y derivados alquilados.

En los oligonucleótidos conjugados con ligandos y los nucleósidos unidos específicamente a secuencias que contienen moléculas que son ligandos de la presente invención, los oligonucleótidos y oligonucleósidos se pueden acoplar en un sintetizador de ADN adecuado

utilizando precursores de nucleótidos o nucleósidos estándar, o precursores de conjugados de nucleótidos o nucleósidos que ya contengan el resto conector, precursores de conjugados de nucleótidos- o nucleósidos-ligando que ya contengan la molécula de ligando, o bloques estructurales que no sean nucleósidos y que contengan el ligando.

Cuando se utilizan precursores de conjugados de nucleótidos que ya contienen un resto conector, normalmente se completa la síntesis de los nucleósidos unidos específicamente a secuencias y a continuación la molécula de ligando se hace reaccionar con el resto conector para formar el oligonucleótido conjugado con el ligando. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos o nucleósidos unidos de la presente invención se sintetizan con un sintetizador automatizado utilizando fosforamiditos derivados de conjugados de nucleósido-ligando, además de los fosforamiditos estándar y fosforamiditos no estándar que se pueden adquirir de proveedores comerciales y que se utilizan de forma rutinaria en la síntesis de oligonucleótidos.

Conjugados de lípidos

En una realización, el ligando es un lípido o una molécula basada en un lípido. Este lípido o esta molécula basada en un lípido se puede unir normalmente a una proteína del suero tal como la albúmina de suero humano

(HSA). Un ligando de unión a HSA permite distribuir el conjugado en un tejido diana. Por ejemplo, el tejido diana puede ser el hígado, incluidas las células parenquimales del hígado. También se pueden utilizar como ligandos otras moléculas que se puedan unir a HSA. Por ejemplo, se puede utilizar la neproxina o la aspirina. Un lípido o un ligando basado en un lípido puede (a) incrementar la resistencia a la degradación del conjugado, (b) incrementar el direccionamiento o el transporte hacia una célula o membrana celular diana y/o (c) se puede utilizar para ajustar la unión a una proteína del suero, p. ej., HSA.

Un ligando basado en un lípido se puede utilizar para modular, p. ej., controlar (p. ej., inhibir) la unión del conjugado a un tejido diana. Por ejemplo, un lípido o un ligando basado en un lípido que se una a HSA con una unión más fuerte presentará una menor probabilidad de ser dirigido hacia el riñón y, por consiguiente, presentará una menor probabilidad de ser expulsado del cuerpo. Un lípido o un ligando basado en un lípido que se una a HSA con una unión menos fuerte se puede utilizar para dirigir el conjugado hacia el riñón.

En una realización, el ligando basado en un lípido se une a HSA. Por ejemplo, el ligando se puede unir a HSA con una afinidad suficiente de manera que la distribución del conjugado en un tejido no renal se vea potenciada. Sin

embargo, normalmente la afinidad no es tan fuerte como para que la unión ligando-HSA no se pueda revertir.

En otra realización, el ligando basado en un lípido se une a HSA débilmente o no se une en absoluto, de manera que la distribución del conjugado en el riñón se vea potenciada. También se pueden utilizar otros restos que ejerzan un direccionamiento hacia las células renales, en lugar o además del ligando basado en un lípido.

En otro aspecto, el ligando es un resto, p. ej., una vitamina, que es absorbido por una célula diana, p. ej., una célula proliferante. Estos son particularmente útiles para tratar trastornos caracterizados por la proliferación de células no deseadas, p. ej., células cancerosas, p. ej., de tipo maligno o no maligno. Las vitaminas ilustrativas incluyen la vitamina A, E y K. Otras vitaminas ilustrativas incluyen la vitamina B, p. ej., ácido fólico, B12, riboflavina, biotina, piridoxal u otras vitaminas o nutrientes absorbidos por las células cancerosas. También se incluyen HSA y lipoproteínas de baja densidad (LDL).

Agentes de permeación celular

En otro aspecto, el ligando es un ligando de permeación celular tal como un ligando de permeación celular helicoidal. En una realización, el agente es anfifático. Un agente ilustrativo es un péptido tal como tat o antennopedia. Si el agente es un péptido, este puede

ser un péptido modificado, que incluye un peptidomimético, invertómeros, conectores no peptídicos o pseudopeptídicos y el uso de aminoácidos D. El agente helicoidal es normalmente un agente de hélice α y puede tener una fase lipófila y lipófoba.

El ligando puede ser un péptido o peptidomimético. Un peptidomimético (también denominado en la presente como oligopeptidomimético) es una molécula capaz de plegarse en una estructura tridimensional definida similar a la de un péptido natural. La unión de péptidos y peptidomiméticos a agentes de ARNi puede afectar a la distribución farmacocinética del ARNi, por ejemplo, potenciando el reconocimiento y la absorción celular. El resto peptídico o peptidomimético puede tener una longitud de aproximadamente 5-50 aminoácidos, p. ej., una longitud de aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 aminoácidos.

Un péptido o peptidomimético puede ser, por ejemplo, un péptido de permeación celular, un péptido catiónico, un péptido anfifático o un péptido hidrófobo (p. ej., constituido principalmente por Tyr, Trp o Phe). El resto peptídico puede ser un péptido dendrimérico, un péptido de movimiento restringido o un péptido reticulado. En otra alternativa, el resto peptídico puede incluir una secuencia de translocación de membrana hidrófoba (MTS, por sus siglas en inglés). Un péptido que contiene una MTS hidrófoba a

modo de ejemplo es RFGF, que tiene la secuencia de aminoácidos AAVALLPAVLLALLAP (SEQ ID NO:685). Un análogo de RFGF (p. ej., la secuencia de aminoácidos AALLPVLLAAP (SEQ ID NO:686)) que contenga una MTS hidrófoba también puede ser un resto de direccionamiento. El resto peptídico puede ser un péptido de "suministro", el cual puede transportar moléculas polares grandes, incluidos péptidos, oligonucleótidos y proteínas, a través de las membranas celulares. Por ejemplo, se ha demostrado que la proteína Tat del VIH (GRKKRRQRRRPPQ (SEQ ID NO:687)) y una proteína de *Drosophila Antennapedia* (RQIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 688)) son capaces de actuar como péptidos de suministro. Un péptido o peptidomimético puede ser codificado por una secuencia aleatoria de ADN, tal como un péptido identificado a partir de una colección de presentación en pagos o una colección combinatoria de una-microesfera-un-compuesto (OBOC, por sus siglas en inglés) (Lam *et al*., *Nature*, 354:82-84, 1991). Normalmente, el péptido o peptidomimético unido a un agente de ARNbc mediante una unidad monomérica incorporada es un péptido de direccionamiento hacia una célula tal como el péptido arginina-glicina-ácido aspártico (RGD) o un mimético de RGD. Un resto peptídico puede tener una longitud comprendida entre aproximadamente 5 aminoácidos y aproximadamente 40 aminoácidos. Los restos peptídicos

pueden presentar una modificación estructural, por ejemplo, para incrementar la estabilidad o dirigir propiedades conformacionales. Se puede utilizar cualquiera de las modificaciones estructurales que se describen más adelante.

Un péptido RGD para su uso en las composiciones y métodos de la invención puede ser lineal o cíclico y puede estar modificado, p. ej., glicosilado o metilado, para facilitar el direccionamiento hacia uno o más tejidos específicos. Los péptidos y peptidomiméticos que contienen RGD pueden incluir aminoácidos D, así como también miméticos de RGD sintéticos. Además de RGD, se pueden utilizar otros restos que tengan como diana el ligando integrina. Los conjugados preferidos de este ligando tienen como diana PECAM-1 o VEGF.

Se puede utilizar un resto peptídico RGD para que actúe sobre un tipo celular particular, p. ej., una célula tumoral tal como una célula tumoral endotelial o una célula tumoral de cáncer de mama (Zitzmann *et al.*, *Cancer Res.*, 62:5139-43, 2002). Un péptido RGD puede facilitar el direccionamiento de un agente de ARNbc hacia tumores de varios tejidos diferentes, que incluyen el pulmón, el riñón, el bazo o el hígado (Aoki *et al.*, *Cancer Gene Therapy* 8:783-787, 2001). Normalmente, el péptido RGD facilitará el direccionamiento de un agente de ARNi hacia el riñón. El péptido RGD puede ser lineal o cíclico y puede

estar modificado, p. ej., glicosilado o metilado, para facilitar el direccionamiento hacia tejidos específicos. Por ejemplo, un péptido RGD glicosilado puede suministrar un agente de ARNi a una célula tumoral que exprese $\alpha_V ß_3$ (Haubner *et al.*, *Jour. Nucl. Med.*, 42:326-336, 2001).

Un "péptido de permeación celular" es capaz de penetrar en una célula, p. ej., una célula microbiana, tal como una célula bacteriana o fúngica, o una célula de mamífero tal como una célula humana. Un péptido de permeación en células microbianas puede ser, por ejemplo, un péptido lineal de hélice α (p. ej., LL-37 o Ceropina P1), un péptido que contenga un enlace de tipo disulfuro (p. ej., α -defensina, β-defensina o bactenecina) o un péptido que contenga únicamente uno o dos aminoácidos dominantes (p. ej., PR-39 o indolicidina). Un péptido de permeación celular también puede incluir una señal de localización nuclear (NLS, por sus siglas en inglés). Por ejemplo, un péptido de permeación celular puede ser un péptido anfifático bipartito tal como MPG, el cual deriva del dominio del péptido de fusión de gp41 del VIH-1 y NLS del antígeno T grande SV40 (Simeoni *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 31:2717-2724, 2003).

Conjugados de carbohidratos

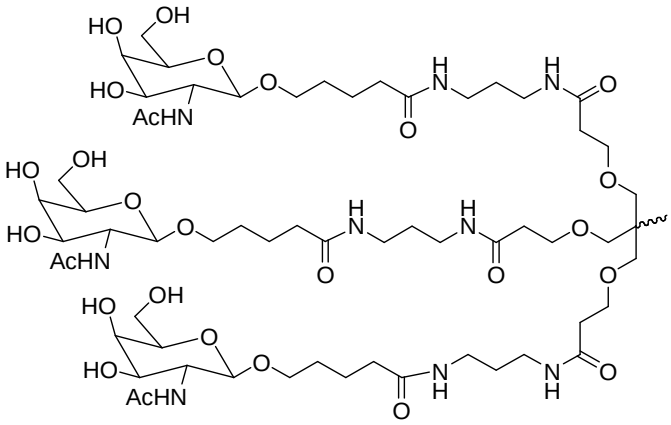
En algunas realizaciones de las composiciones y los métodos de la invención, un oligonucleótido de tipo ARNi

comprende además un carbohidrato. Los ARNi conjugados con carbohidratos son convenientes para el suministro *in vivo* de ácidos nucleicos, así como también para composiciones adecuadas para el uso terapéutico *in vivo*, según se describe en la presente. El término "carbohidrato", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un compuesto que o bien es un carbohidrato de por sí constituido por una o más unidades de monosacáridos que contienen al menos 6 átomos de carbono (que pueden ser lineales, ramificados o cíclicos) con un átomo de oxígeno, nitrógeno o azufre unido a cada átomo de carbono; o un compuesto que tiene como parte de este un resto de carbohidrato constituido por una o más unidades de monosacáridos, teniendo cada una de ellas al menos seis átomos de carbono (que pueden ser lineales, ramificados o cíclicos), con un átomo de oxígeno, nitrógeno o azufre unido a cada átomo de carbono. Los carbohidratos representativos incluyen los azúcares (mono-, di-, tri- y oligosacáridos que contienen desde aproximadamente 4, 5, 6, 7, 8 o 9 unidades de monosacáridos) y polisacáridos tales como almidones, glicógeno, celulosa y gomas de polisacáridos. Los monosacáridos específicos incluyen azúcares C5 y los azúcares anteriores (p. ej., C5, C6, C7 o C8); los di- y trisacáridos incluyen azúcares que tienen dos o más unidades de monosacáridos (p. ej., C5, C6, C7 o C8).

En una realización, un conjugado de carbohidrato comprende un monosacárido. En una realización, el monosacárido es una *N*-acetilgalactosamina (GalNAc). Los conjugados de tipo GalNAc, que comprenden uno o más derivados de N-acetilgalactosamina (GalNAc), se describen, por ejemplo, en la Patente de EE. UU. N.º 8.106.022, el contenido completo de la cual se incorpora a la presente por referencia. En algunas realizaciones, el conjugado de tipo GalNAc sirve como ligando que dirige el ARNi hacia células particulares. En algunas realizaciones, el conjugado de tipo GalNAc dirige el ARNi hacia células hepáticas, p. ej., actuando como un ligando para el receptor de la asialoglicoproteína de las células hepáticas (p. ej., los hepatocitos).

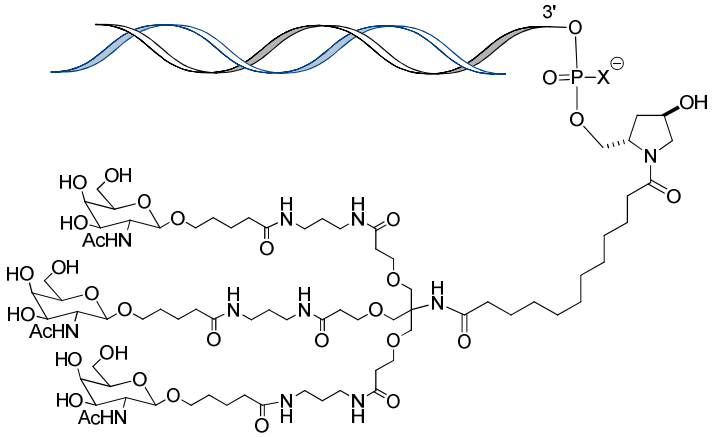
En algunas realizaciones, el conjugado de carbohidrato comprende uno o más derivados de tipo GalNAc. Los derivados de tipo GalNAc se pueden unir mediante un conector, p. ej., un conector ramificado bivalente o trivalente. En algunas realizaciones, el conjugado de tipo GalNAc está conjugado con el extremo 3’ de la hebra sentido. En algunas realizaciones, el conjugado de tipo GalNAc está conjugado con el agente de ARNi (p. ej., con el extremo 3' de la hebra sentido) mediante un conector, p. ej., un conector según se describe en la presente.

En algunas realizaciones, el conjugado de tipo GalNAc es

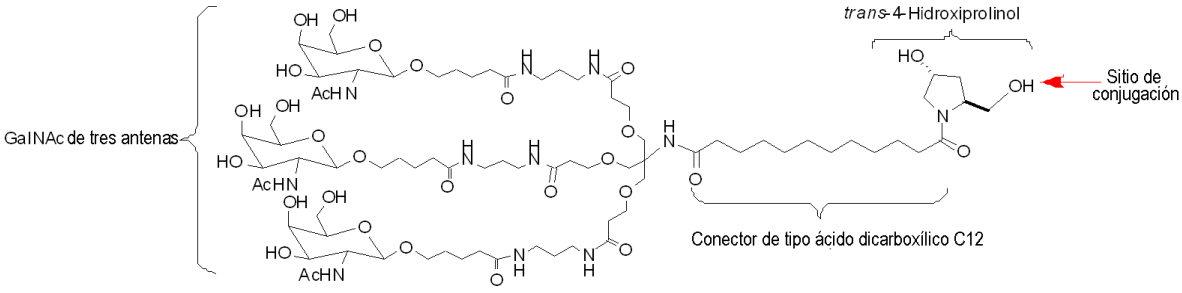


Fórmula II.

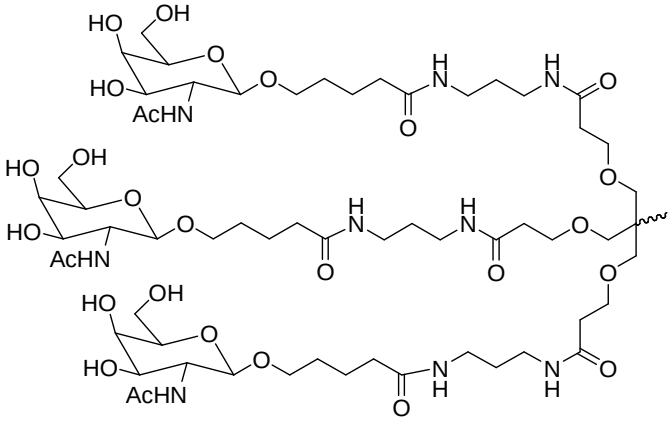
En algunas realizaciones, el agente de iARN está unido al conjugado de carbohidrato mediante un conector, según se muestra en la siguiente representación esquemática, donde X es O o S



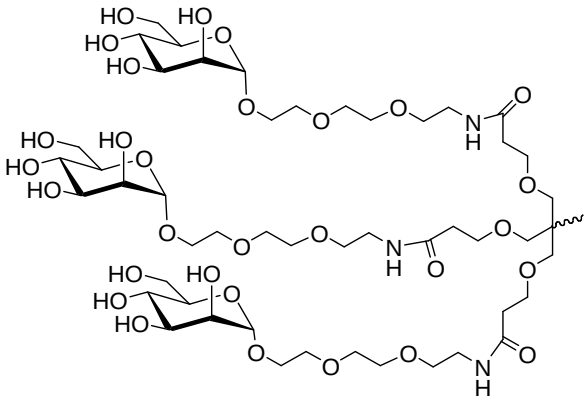
En algunas realizaciones, el agente de iARN se conjuga a L96 según se define en la Tabla 1 y se muestra a continuación.



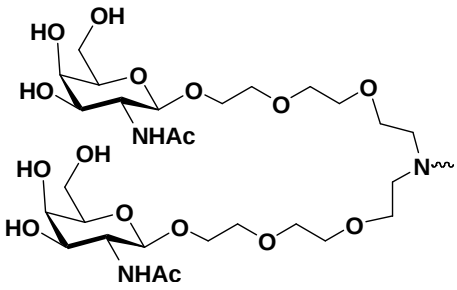
En algunas realizaciones, un conjugado de carbohidrato para su uso en las composiciones y los métodos de la invención se selecciona del grupo constituido por:



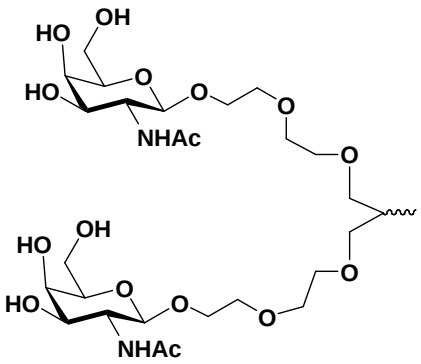
Fórmula II,



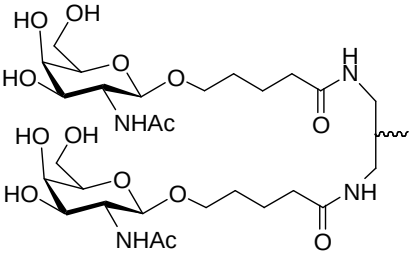
Fórmula III,



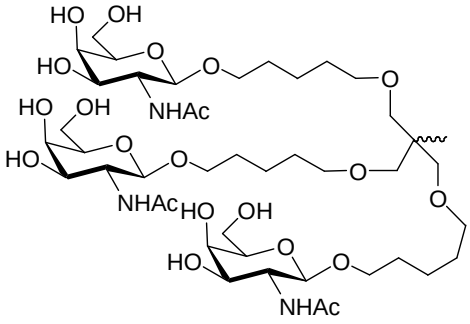
Fórmula IV,



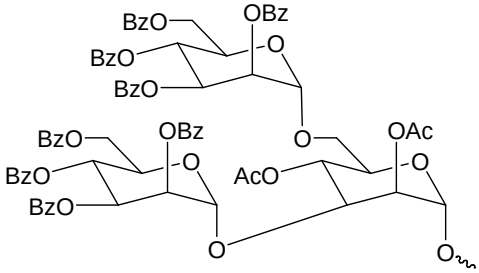
Fórmula V,



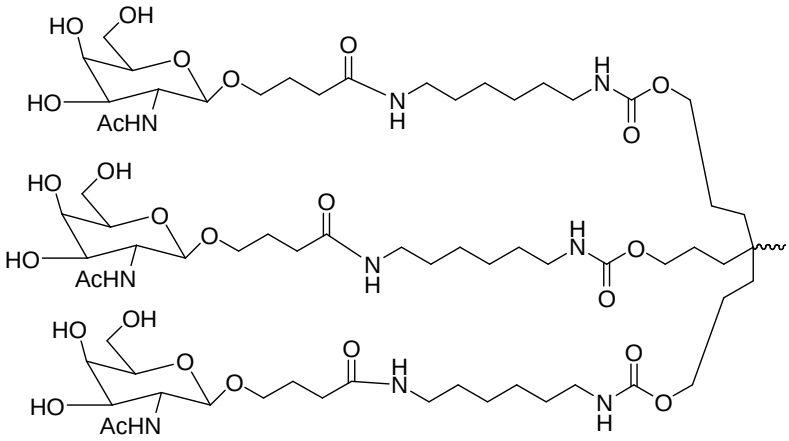
Fórmula VI,



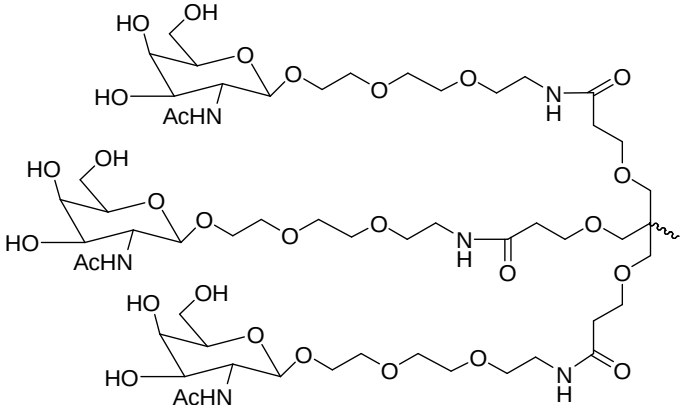
Fórmula VII,



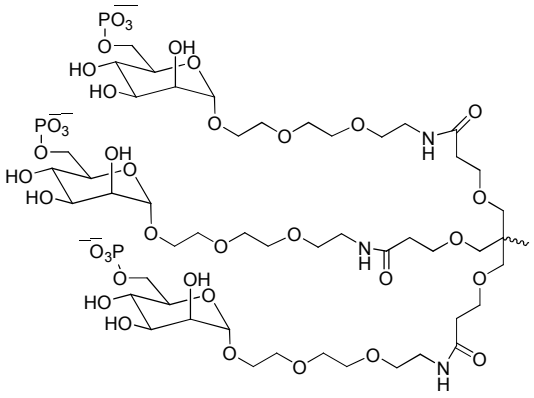
Fórmula VIII,



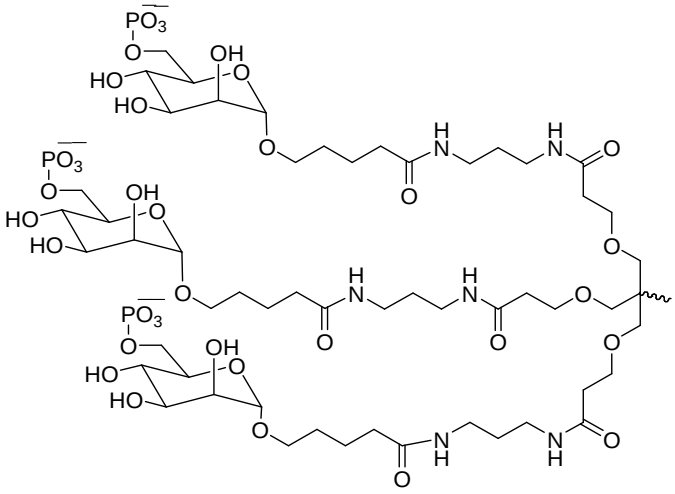
Fórmula IX,



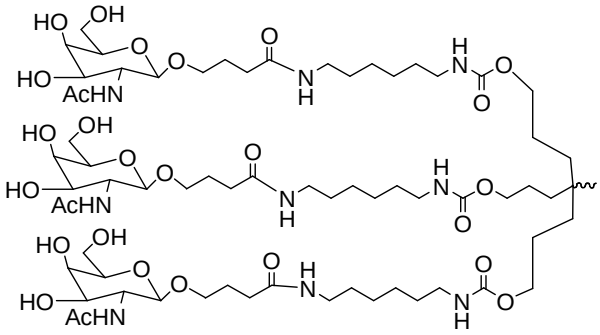
Fórmula X,



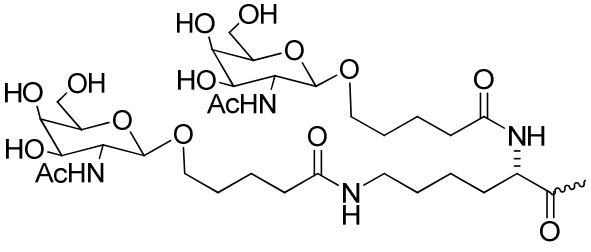
Fórmula XI,



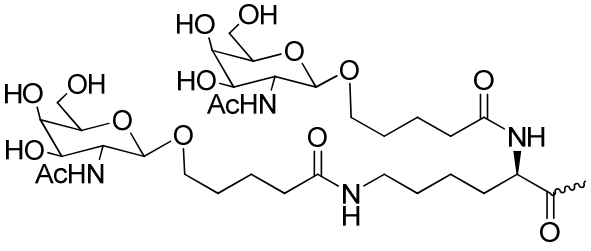
Fórmula XII,



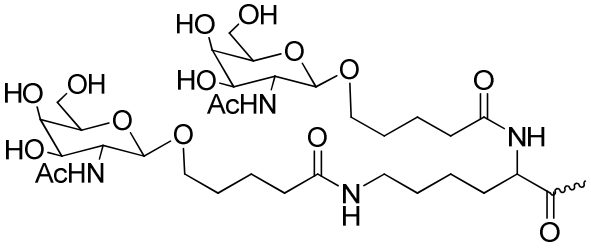
Fórmula XIII,



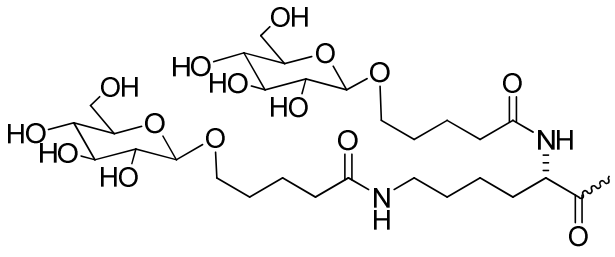
Fórmula XIV,



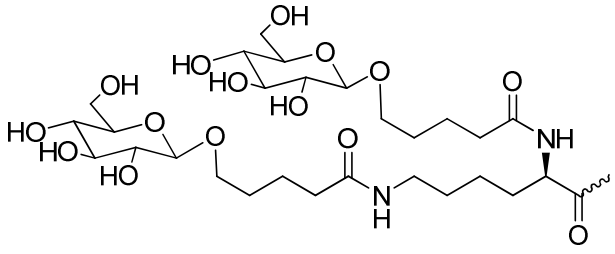
Fórmula XV,



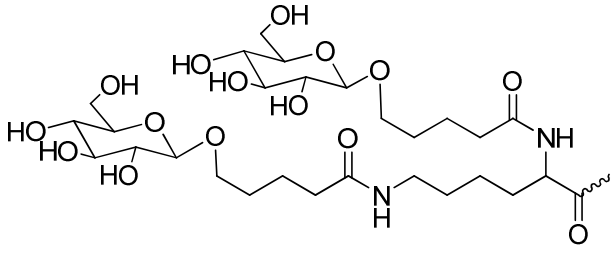
Fórmula XVI,



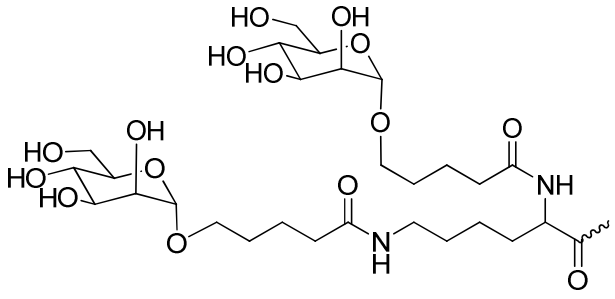
Fórmula XVII,



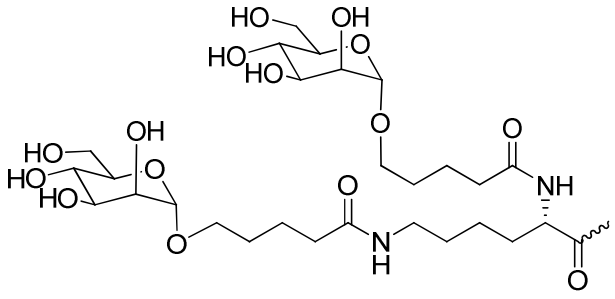
Fórmula XVIII,



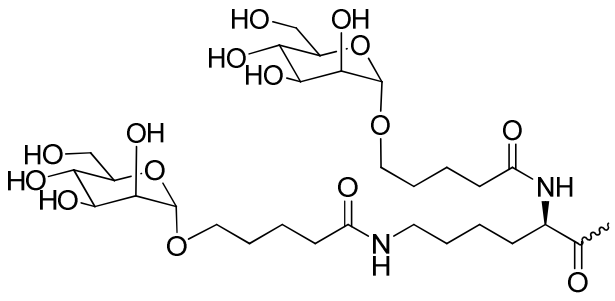
Fórmula XIX,



Fórmula XX,

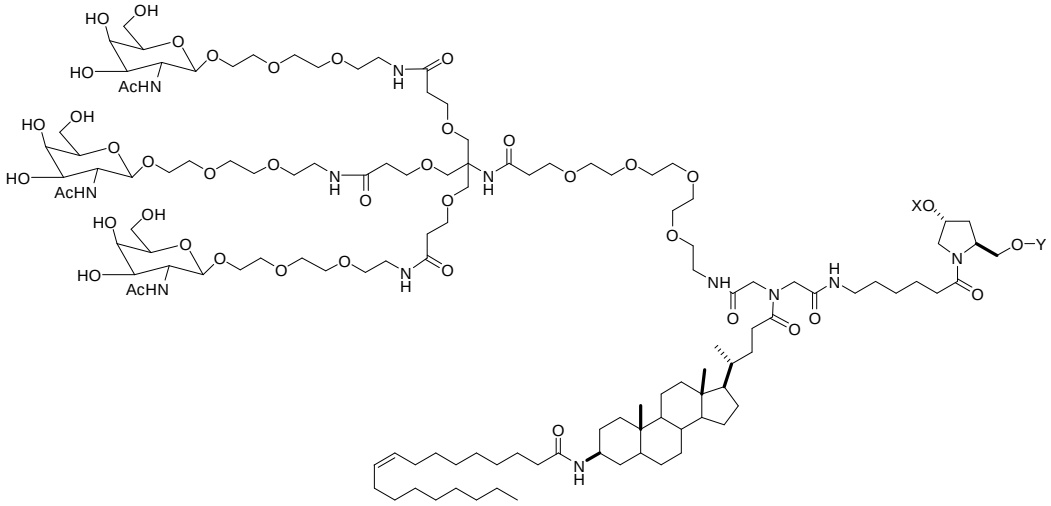


Fórmula XXI,



Fórmula XXII.

Otro conjugado de carbohidrato representativo para su uso en las realizaciones descritas en la presente incluye, sin carácter limitante,

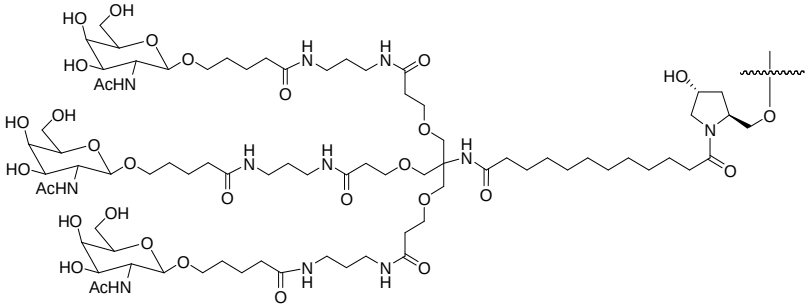


Fórmula XXIII), donde uno de los grupos X o Y es un oligonucleótido y el otro es un hidrógeno.

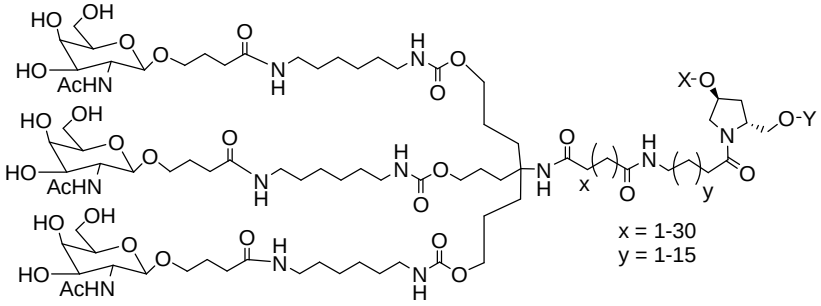
En algunas realizaciones, el conjugado de carbohidrato comprende además uno o más ligandos adicionales como los que se describen en la presente, tales como, sin carácter limitante, un modulador PK y/o un péptido de permeación celular.

En una realización, un ARNi de la invención está conjugado con un carbohidrato a través de un conector. Los ejemplos no limitantes de conjugados de carbohidrato y ARNi

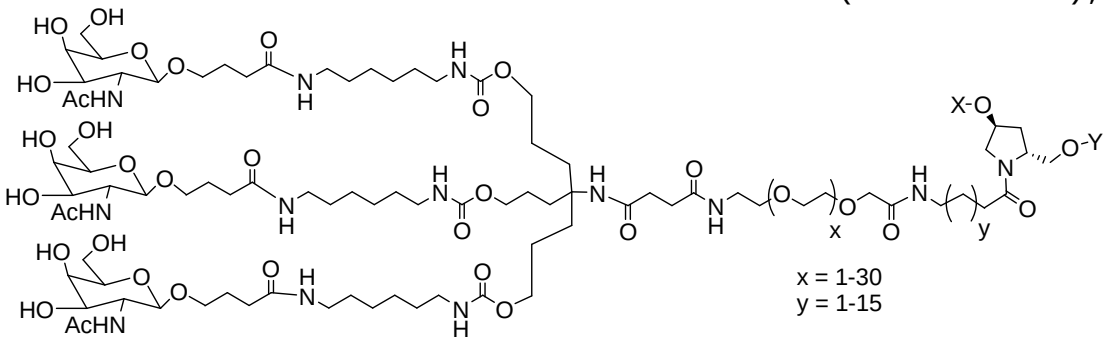
con conectores de las composiciones y los métodos de la invención incluyen, sin carácter limitante,



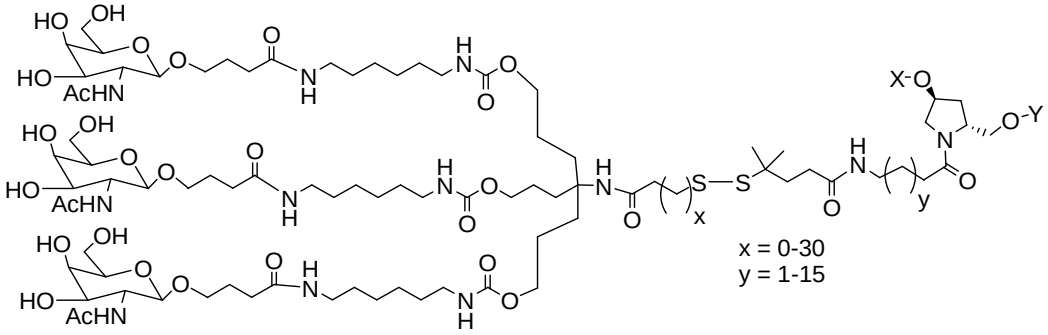
(Fórmula XXIV),



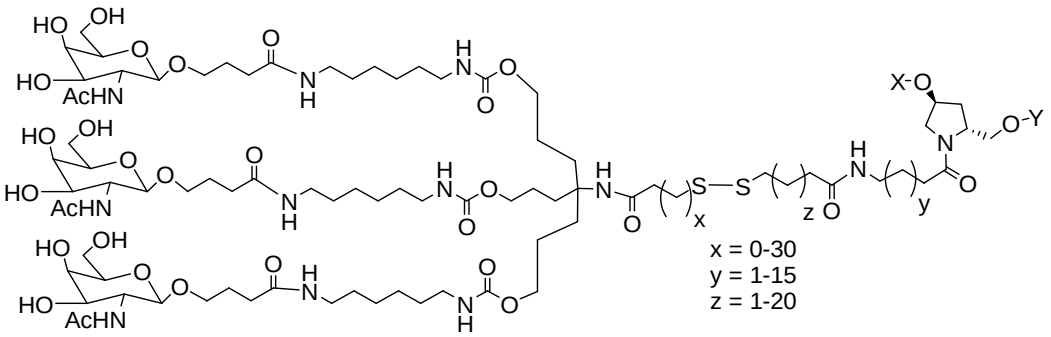
(Fórmula XXV),



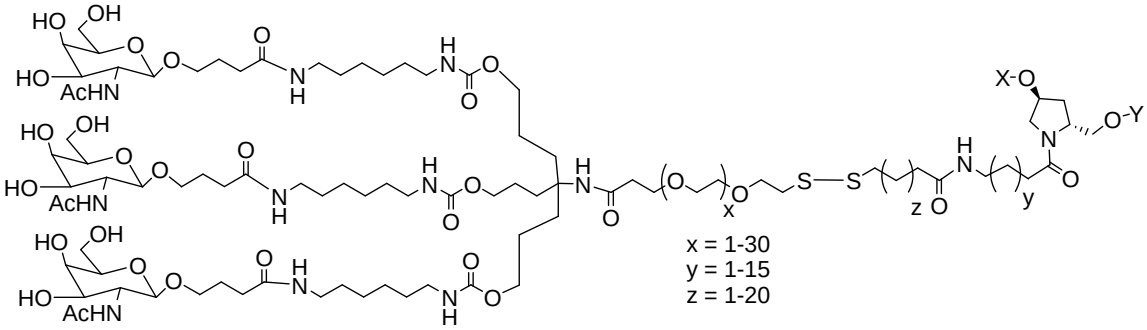
(Fórmula XXVI),



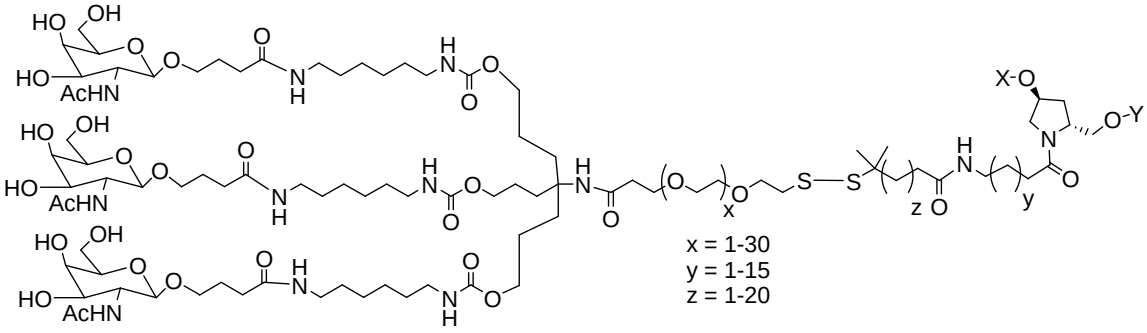
(Fórmula XXVII),



(Fórmula XXVIII),



(Fórmula XXIX) y



(Fórmula XXX), donde uno de los grupos X o Y es un oligonucleótido y el otro es un hidrógeno.

Conectores

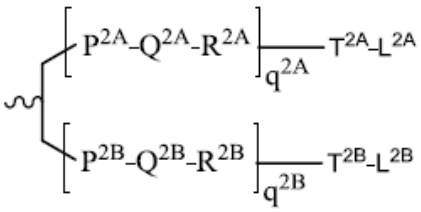
En algunas realizaciones, el conjugado o ligando descrito en la presente se puede unir a un oligonucleótido de tipo ARNi con varios conectores que pueden ser escindibles o no escindibles.

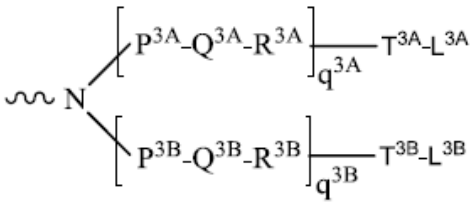
El término "conector" o "grupo conector" se refiere a un resto orgánico que conecta dos partes de un compuesto, p. ej., une covalentemente dos partes de un compuesto. Los conectores comprenden normalmente un enlace directo o un átomo tal como oxígeno o azufre, una unidad tal como NR8, C(O), C(O)NH, SO, SO_2, SO_2NH o una cadena de átomos tal como, sin carácter limitante, alquilo sustituido o no sustituido, alquenilo sustituido o no sustituido, alquinilo sustituido o no sustituido, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, heteroarilalquilo, heteroarilalquenilo, heteroarilalquinilo, heterociclilalquilo, heterociclilalquenilo, heterociclilalquinilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, alquilarilalquilo, alquilarilalquenilo, alquilarilalquinilo, alquenilarilalquilo, alquenilarilalquenilo, alquenilarilalquinilo, alquinilarilalquilo, alquinilarilalquenilo, alquinilarilalquinilo, alquilheteroarilalquilo, alquilheteroarilalquenilo, alquilheteroarilalquinilo, alquenilheteroarilalquilo, alquenilheteroarilalquenilo, alquenillheteroarilalquinilo, alquinilheteroarilalquilo, alquinilheteroarilalquenilo, alquinilheteroarilalquinilo, alquilheterociclilalquilo, alquilheterociclilalquenilo, alquilheterociclilalquinilo, alquenilheterociclilaquilo, alquenilheterociclilalquenilo,

alquenilheterociclilalquinilo, alquinilheterociclilalquilo, alquinilheterociclilalquenilo, alquinilheterociclilalquinilo, alquilarilo, alquenilarilo, alquinilarilo, alquilheteroarilo, alquenilheteroarilo, alquinilheteroarilo, donde uno o más metilenos se pueden interrumpir o terminar con O, S, S(O), SO_2, N(R8), C(O), arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido; donde R8 es hidrógeno, acilo, un resto alifático o un resto alifático sustituido. En una realización, el conector tiene aproximadamente 1-24 átomos, 2-24, 3-24, 4-24, 5-24, 6-24, 6-18, 7-18, 8-18 átomos, 7-17, 8-17, 6-16, 7-16 o 8-16 átomos.

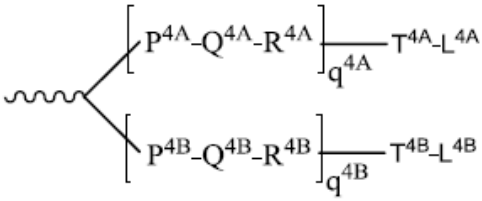
En una realización, un ARNbc de la invención está conjugado con un conector ramificado bivalente o trivalente seleccionado a partir del grupo de estructuras que se muestran en cualquiera de las fórmulas (XXXI)–(XXXIV):

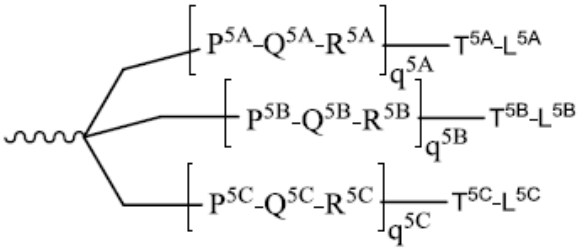
Fórmula XXXI Fórmula XXXII





Fórmula XXXIII





Fórmula XXXIV

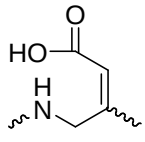
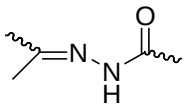
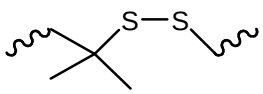
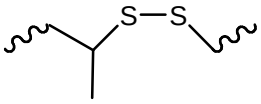
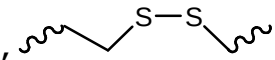
donde:

q2A, q2B, q3A, q3B, q4A, q4B, q5A, q5B y q5C representan independientemente en cada caso 0-20 y donde la unidad de repetición puede ser igual o diferente;

P^{2A}, P^{2B}, P^{3A}, P^{3B}, P^{4A}, P^{4B}, P^{5A}, P^{5B}, P^{5C}, T^{2A}, T^{2B}, T^{3A}, T^{3B}, T^{4A}, T^{4B}, T^{4A}, T^{5B}, T^{5C}, cada uno independientemente en cada caso, están ausentes o son CO, NH, O, S, OC(O), NHC(O), CH_2, CH_2NH, CH_2O;

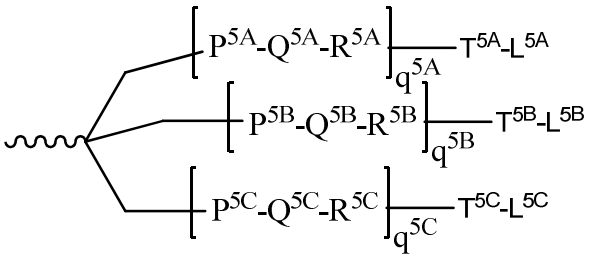
Q^{2A}, Q^{2B}, Q^{3A}, Q^{3B}, Q^{4A}, Q^{4B}, Q^{5A}, Q^{5B}, Q^{5C}, cada uno independientemente en cada caso, están ausentes o son alquileno, alquileno sustituido, donde uno o más metilenos pueden estar interrumpidos o terminados con uno o más O, S, S(O), SO_2, $N(R^N)$, C(R')=C(R''), C≡C o C(O);

R^{2A}, R^{2B}, R^{3A}, R^{3B}, R^{4A}, R^{4B}, R^{5A}, R^{5B}, R^{5C}, cada uno independientemente en cada caso, están ausentes o son NH,

O, S, CH_2, C(O)O, C(O)NH, $NHCH(R^a)C(O)$, $-C(O)-CH(R^a)-NH-$, CO, CH=N-O,  ,  ,  ,  ,  , o heterociclilo;

L^{2A}, L^{2B}, L^{3A}, L^{3B}, L^{4A}, L^{4B}, L^{5A}, L^{5B} y L^{5C} representan el ligando, es decir, cada uno independientemente en cada caso representa un monosacárido (tal como GalNAc), disacárido, trisacárido, tetrasacárido, oligosacárido o polisacárido; y R^a es H o una cadena lateral aminoacídica. Los derivados de tipo GalNAc de conjugación trivalente son particularmente útiles para ser utilizados con los agentes de iARN para inhibir la expresión de un gen diana, tales como los de fórmula (XXXV):

Fórmula XXXV



,

donde L^{5A}, L^{5B} y L^{5C} representan un monosacárido tal como un derivado de tipo GalNAc.

Los ejemplos de grupos conectores ramificados bivalentes y trivalentes adecuados que se conjugan con derivados de tipo GalNAc incluyen, sin carácter limitante,

las estructuras mencionadas anteriormente como fórmulas II, VII, XI, X y XIII.

Un grupo conector escindible es aquel que es suficientemente estable fuera de la célula pero que, al entrar en una célula diana, se escinde para liberar las dos partes que el conector mantenía unidas. En una realización preferida, el grupo conector escindible se escinde al menos aproximadamente 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o más, o al menos aproximadamente 100 veces más rápido en una célula diana o en una primera condición de referencia (la cual se puede seleccionar, p. ej., para que imite o represente las condiciones intracelulares) que en la sangre de un sujeto, o en una segunda condición de referencia (la cual se puede seleccionar, p. ej., para que imite o represente las condiciones que se encuentran en la sangre o el suero).

Los grupos conectores escindibles son sensibles a los agentes de escisión, p. ej., el pH, el potencial rédox o la presencia de moléculas que provocan degradación. En general, los agentes de escisión se encuentran o prevalecen en mayor grado en concentraciones o actividades más elevadas dentro de las células que en suero o sangre. Los ejemplos de tales agentes que provocan degradación incluyen: agentes rédox que se seleccionan para sustratos particulares o que no tienen especificidad por un sustrato,

los cuales incluyen, p. ej., enzimas oxidantes o reductoras o agentes reductores tales como los mercaptanos, presentes en las células, que pueden degradar un grupo conector escindible rédox mediante una reducción; estearasas; endosomas o agentes que pueden crear un entorno ácido, p. ej., los que proporcionan un pH de cinco o inferior; enzimas que pueden hidrolizar o degradar un grupo conector escindible con ácido actuando como un ácido general, peptidasas (que pueden ser específicas para un sustrato) y fosfatasas.

Un grupo conector escindible, tal como un enlace de tipo disulfuro, puede ser sensible al pH. El pH del suero humano es de 7.4, mientras que el pH intracelular medio es ligeramente inferior, está comprendido entre aproximadamente 7.1 y 7.3. Los endosomas tienen un pH más ácido, comprendido en el intervalo de 5.5 a 6.0, y los lisosomas tienen un pH todavía más ácido de aproximadamente 5.0. Algunos conectores tendrán un grupo conector escindible que se escinde a un pH preferido, liberando de este modo un lípido catiónico a partir del ligando en el interior de la célula o en el compartimento deseado de la célula.

Un conector puede incluir un grupo conector escindible que pueda ser escindido por una enzima particular. El tipo de grupo conector escindible incorporado en un conector

puede depender de la célula que se tenga como diana. Por ejemplo, un ligando que tenga el hígado como diana se puede unir a un lípido catiónico a través de un conector que incluya un grupo éster. Las células hepáticas son ricas en estearasas y, por consiguiente, el conector se escindirá de una forma más eficaz en las células hepáticas que en los tipos celulares que no sean ricos en estearasas. Otros tipos celulares ricos en estearasas incluyen las células del pulmón, la corteza renal y los testículos.

Se pueden utilizar conectores que contengan enlaces peptídicos cuando se tengan como diana tipos celulares ricos en peptidasas tales como las células hepáticas y los sinoviocitos.

En general, la idoneidad de un grupo conector escindible candidato se puede evaluar estudiando la capacidad de un agente (o condición) de degradación para escindir el grupo conector candidato. También será deseable estudiar además el grupo conector escindible candidato con el fin de determinar su capacidad para resistir la escisión en sangre o cuando entre en contacto con otro tejido que no sea la diana. Por lo tanto, se puede determinar la susceptibilidad relativa a la escisión entre una primera y una segunda condición, donde la primera se selecciona para que sea indicativa de la escisión en una célula diana y la segunda se selecciona para que sea indicativa de la

escisión en otros tejidos o fluidos biológicos, p. ej., en sangre o suero. Las evaluaciones se pueden llevar a cabo en sistemas exentos de células, en células, en cultivos celulares, en cultivos tisulares o de órganos, o en animales enteros. Puede resultar útil realizar evaluaciones iniciales en condiciones de cultivo o exentas de células y confirmarlas mediante evaluaciones adicionales en animales enteros. En realizaciones preferidas, los compuestos candidatos útiles se escinden al menos aproximadamente 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o aproximadamente 100 veces más rápido en la célula (o en condiciones *in vitro* seleccionadas para imitar las condiciones intracelulares) en comparación con la sangre o el suero (o en condiciones *in vitro* seleccionadas para imitar las condiciones extracelulares).

Grupos conectores escindibles rédox

En una realización, un grupo conector escindible es un grupo conector escindible rédox que se escinde tras una reducción u oxidación. Un ejemplo de un grupo conector escindible de forma reductiva es un grupo conector de tipo disulfuro (-S-S-). Para determinar si un grupo conector escindible candidato es un "grupo conector escindible de forma reductiva" adecuado o, por ejemplo, es adecuado para su uso con un resto de ARNi particular y un agente de direccionamiento particular, se pueden consultar los

métodos descritos en la presente. Por ejemplo, un candidato se puede evaluar mediante la incubación con ditiotreitol (DTT) u otro agente reductor utilizando reactivos conocidos en la técnica que imitan la tasa de escisión que se observaría en una célula, p. ej. una célula diana. Los candidatos también se pueden evaluar en unas condiciones que se seleccionan para que imiten las condiciones en sangre o suero. En un caso, los compuestos candidatos se escinden como máximo aproximadamente un 10% en sangre. En otras realizaciones, los compuestos candidatos útiles se degradan al menos aproximadamente 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o aproximadamente 100 veces más rápido en la célula (o en condiciones *in vitro* seleccionadas para imitar las condiciones intracelulares) en comparación con la sangre (o en condiciones *in vitro* seleccionadas para imitar las condiciones extracelulares). La tasa de escisión de los compuestos candidatos se puede determinar utilizando ensayos cinéticos enzimáticos estándar en condiciones seleccionadas para que imiten los medios intracelulares y comparándolos con unas condiciones seleccionadas para imitar los medios extracelulares.

Grupos conectores escindibles basados en fosfatos

En otra realización, un conector escindible comprende un grupo conector escindible basado en un fosfato. Un grupo conector escindible basado en un fosfato es escindido por

agentes que degradan o hidrolizan el grupo fosfato. Un ejemplo de un agente que escinde grupos fosfato en células son enzimas tales como las fosfatasas en células. Algunos ejemplos de grupos conectores basados en fosfatos son -O-P(O)(ORk)-O-, -O-P(S)(ORk)-O-, -O-P(S)(SRk)-O-, -S-P(O)(ORk)-O-, -O-P(O)(ORk)-S-, -S-P(O)(ORk)-S-, -O-P(S)(ORk)-S-, -S-P(S)(ORk)-O-, -O-P(O)(Rk)-O-, -O-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-O-, -S-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-S-, -O-P(S)(Rk)-S-. Las realizaciones preferidas son -O-P(O)(OH)-O-, -O-P(S)(OH)-O-, -O-P(S)(SH)-O-, -S-P(O)(OH)-O-, -O-P(O)(OH)-S-, -S-P(O)(OH)-S-, -O-P(S)(OH)-S-, -S-P(S)(OH)-O-, -O-P(O)(H)-O-, -O-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-O, -S-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-S-, -O-P(S)(H)-S-. Una realización preferida es -O-P(O)(OH)-O-. Estos candidatos se pueden evaluar utilizando métodos análogos a los descritos anteriormente.

Grupos conectores escindibles con ácido

En otra realización, un conector escindible comprende un grupo conector escindible con ácido. Un grupo conector escindible con ácido es un grupo conector que se escinde en condiciones ácidas. En realizaciones preferidas, los grupos conectores escindibles con ácido se escinden en un entorno ácido con un pH de aproximadamente 6.5 o inferior (p. ej., de aproximadamente 6.0, 5.75, 5.5, 5.25, 5.0 o inferior) o con agentes tales como enzimas que pueden actuar como un ácido general. En una célula, los orgánulos de pH bajo

específicos, tales como los endosomas y lisosomas, pueden proporcionar un entorno de escisión para los grupos conectores escindibles con ácido. Los ejemplos de grupos conectores escindibles con ácido incluyen, sin carácter limitante, hidrazonas, ésteres, y ésteres de aminoácidos. Los grupos escindibles con ácido presentan la fórmula general -C=NN-, C(O)O o -OC(O). Una realización preferida se produce cuando el carbono unido al oxígeno del éster (el grupo alcoxi) es un grupo arilo, un grupo alquilo sustituido o un grupo alquilo terciario tal como dimetilpentilo o *t*-butilo. Estos candidatos se pueden evaluar utilizando métodos análogos a los descritos anteriormente.

Grupos conectores escindibles basados en ésteres

En otra realización, un conector escindible comprende un grupo conector escindible basado en un éster. Un grupo conector escindible basado en un éster es escindido por enzimas tales como esterasas y amidasas en las células. Los ejemplos de grupos conectores escindibles basados en ésteres incluyen, sin carácter limitante, ésteres de grupos alquileno, alquenileno y alquinileno. Los grupos conectores escindibles basados en ésteres presentan la fórmula general -C(O)O- o -OC(O)-. Estos candidatos se pueden evaluar utilizando métodos análogos a los descritos anteriormente.

Grupos conectores escindibles basados en péptidos

En otra realización más, un conector escindible comprende un grupo conector escindible basado en péptidos. Un grupo conector escindible basado en péptidos es escindido por enzimas tales como peptidasas y proteasas en las células. Los grupos conectores escindibles basados en péptidos son enlaces peptídicos formados entre aminoácidos para proporcionar oligopéptidos (p. ej., dipéptidos, tripéptidos, etc.) y polipéptidos. Los grupos escindibles basados en péptidos no incluyen el grupo amida (-C(O)NH-). El grupo amida se puede formar entre cualquier alquileno, alquenileno o alquinileno. Un enlace peptídico es un tipo especial de enlace de tipo amida formado entre aminoácidos para proporcionar péptidos y proteínas. El grupo escindible basado en un péptido se limita en general al enlace peptídico (es decir, el enlace de tipo amida) formado entre aminoácidos para proporcionar péptidos y proteínas y no incluye el grupo funcional amida entero. Los grupos conectores escindibles basados en péptidos presentan la fórmula general –NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-, donde RA y RB son los grupos R de los dos aminoácidos adyacentes. Estos candidatos se pueden evaluar utilizando métodos análogos a los descritos anteriormente.

Las patentes de EE. UU. representativas que describen la preparación de conjugados de ARN incluyen, sin carácter limitante, las Pat. de EE. UU. N.ºs 4.828.979, 4.948.882,

5.218.105, 5.525.465, 5.541.313, 5.545.730, 5.552.538, 5.578.717, 5.580.731, 5.591.584, 5.109.124, 5.118.802, 5.138.045, 5.414.077, 5.486.603, 5.512.439, 5.578.718, 5.608.046, 4.587.044, 4.605.735, 4.667.025, 4.762.779, 4.789.737, 4.824.941, 4.835.263, 4.876.335, 4.904.582, 4.958.013, 5.082.830, 5.112.963, 5.214.136, 5.082.830, 5.112.963, 5.214.136, 5.245.022, 5.254.469, 5.258.506, 5.262.536, 5.272.250, 5.292.873, 5.317.098, 5.371.241, 5.391.723, 5.416.203, 5.451.463, 5.510.475, 5.512.667, 5.514.785, 5.565.552, 5.567.810, 5.574.142, 5.585.481, 5.587.371, 5.595.726, 5.597.696, 5.599.923, 5.599.928 y 5.688.941, 6.294.664, 6.320.017, 6.576.752, 6.783.931, 6.900.297, 7.037.646, 8.106.022, los contenidos completos de cada una de las cuales se incorporan a la presente por referencia.

No es necesario que todas las posiciones de un compuesto determinado se modifiquen de forma uniforme y, de hecho, más de una de las modificaciones mencionadas anteriormente se pueden incorporar en un único compuesto o incluso en un único nucleósido dentro de un ARNi. La presente invención también incluye compuestos de ARNi que son compuestos quiméricos.

Los compuestos de ARNi "quiméricos" o "quimeras", en el contexto de la presente invención, son compuestos de ARNi, p. ej., ARNbc, que contienen dos o más regiones

químicamente diferentes, cada una de las cuales está constituida por al menos una unidad monomérica, es decir, un nucleótido en el caso de un compuesto de ARNbc. Estos ARNi contienen normalmente al menos una región en la cual el ARN está modificado para conferir al ARNi una mayor resistencia a la degradación por parte de nucleasas, una mayor captación celular y/o una mayor afinidad de unión para el ácido nucleico diana. Una región adicional del ARNi puede servir como sustrato para enzimas capaces de escindir híbridos de ARN:ADN o ARN:ARN. A modo de ejemplo, una RNasa H es una endonucleasa celular que escinde la hebra de ARN de un dúplex de ARN:ADN. Por consiguiente, la activación de una RNasa H provoca la escisión de la diana de ARN y de este modo potencia enormemente la eficacia de la inhibición de la expresión génica por parte del ARNi. Como consecuencia, a menudo se pueden obtener resultados comparables con ARNi más cortos cuando se utilizan ARNbc quiméricos, en comparación con fosforotioato desoxi ARNbc que se hibridan con la misma región diana. La escisión de la diana de ARN se puede detectar de forma rutinaria mediante electroforesis en gel y, cuando proceda, técnicas de hibridación de ácidos nucleicos asociados conocidas en la técnica.

En ciertos casos, el ARN de un ARNi se puede modificar con un grupo que no sea un ligando. Se han conjugado una

serie de moléculas que no son ligandos a ARNi con el fin de potenciar la actividad, distribución celular o captación celular del ARNi, y los procedimientos para llevar a cabo tales conjugaciones se pueden consultar en la bibliografía científica. Tales restos que no son ligandos han incluido restos lipídicos, tales como el colesterol (Kubo, T. *et al., Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1):54-61; Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:6553), ácido cólico (Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053), un tioéter, p. ej., hexil-*S*-tritiltiol (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306; Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Let.*, 1993, 3:2765), un tiocolesterol (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533), una cadena alifática, p. ej., residuos de dodecandiol o undecilo (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J*, 1991, 10:111; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49), un fosfolípido, p. ej., dihexadecil-rac-glicerol o 1,2-di-*O*-hexadecil-rac-glicero-3*H*-fosfonato de trietilamonio (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777), una poliamina o una cadena de polietilenglicol (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969) o ácido adamantanacético (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651), un resto de palmitilo (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*,

1995, 1264:229), o un resto de octadecilamina o hexilaminocarboniloxicolesterol (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923). Las patentes de Estados Unidos representativas que describen la preparación de tales conjugados de ARN se han enumerado anteriormente. Los protocolos de conjugación habituales implican la síntesis de un ARN que contiene un aminoconector en una o más posiciones de la secuencia. A continuación, el grupo camino se hace reaccionar con la molécula que se ha de conjugar utilizando reactivos activantes o de acoplamiento adecuados. La reacción de conjugación se puede llevar a cabo o bien con el ARN todavía unido al soporte sólido o tras la escisión del ARN, en fase de solución. La purificación del conjugado de ARN mediante HPLC proporciona normalmente el conjugado puro.

Suministro de ARNi

El suministro de un ARNi a un sujeto que lo necesite se puede llevar a cabo de diferentes maneras. Se puede llevar a cabo un suministro *in vivo* directamente administrando una composición que comprenda un ARNi, p. ej. un ARNbc, a un sujeto. Como alternativa, el suministro se puede llevar a cabo de forma indirecta administrando uno o más vectores que codifiquen y dirijan la expresión del ARNi. Estas alternativas se exponen con más detalle a continuación.

Suministro directo

En general, cualquier método para suministrar una molécula de ácido nucleico se puede adaptar para ser utilizado con un ARNi (remítase, p. ej., a Akhtar S. y Julian RL. (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144 y WO94/02595, los cuales se incorporan a la presente por referencia en su totalidad). Sin embargo, existen tres factores importantes que se deben tener en cuenta para suministrar con éxito una molécula de ARNi *in vivo*: (a) la estabilidad biológica de la molécula suministrada, (2) la prevención de efectos no específicos y (3) la acumulación de la molécula suministrada en el tejido diana. Los efectos no específicos de un ARNi se pueden minimizar mediante una administración local, por ejemplo, mediante una inyección directa o un implante en un tejido (a modo de ejemplo no limitante, un tumor) o administrando el preparado por vía tópica. La administración local a un sitio de tratamiento maximiza la concentración local del agente, limita la exposición del agente a tejidos sistémicos que de otro modo podrían ser dañados por el agente o que podrían degradar el agente, y permite administrar una dosis total más baja de la molécula de ARNi. Varios estudios han mostrado una supresión con éxito de productos génicos cuando se administra un ARNi de forma local. Por ejemplo, se ha demostrado que el suministro intraocular de un ARNbc VEGF

mediante una inyección intravítrea en monos cinomólogos (Tolentino, MJ., *et al*. (2004) *Retina* 24:132-138) e inyecciones subretinales en ratones (Reich, SJ., *et al.* (2003) *Mol. Vis.* 9:210-216) previenen en ambos casos la neovascularización en un modelo experimental de degeneración macular relacionada con la edad. Además, la inyección intratumoral directa de un ARNbc en ratones reduce el volumen tumoral (Pille, J. *et al*. (2005) *Mol. Ther.*11:267-274) y puede prolongar la supervivencia de ratones portadores de tumores (Kim, WJ. *et al.* (2006) *Mol. Ther.* 14:343-350; Li, S. *et al*. (2007) *Mol. Ther.* 15:515-523). La interferencia por ARN también ha tenido éxito con el suministro local al SNC mediante inyección directa (Dorn, G. *et al*. (2004) *Nucleic Acids* 32:e49; Tan, PH., *et al*. (2005) *Gene Ther.* 12:59-66; Makimura, H. *et al.* (2002) *BMC Neurosci.* 3:18; Shishkina, GT., *et al*. (2004) *Neuroscience* 129:521-528; Thakker, ER. *et al*. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.A.* 101:17270-17275; Akaneya,Y. *et al.* (2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602) y a los pulmones mediante una administración intranasal (Howard, KA. *et al.* (2006) *Mol. Ther.* 14:476-484; Zhang, X. *et al*. (2004) *J. Biol. Chem.* 279:10677-10684; Bitko, V. *et al.* (2005) *Nat. Med.* 11:50-55). Con el fin de administrar un ARNi por vía sistémica para el tratamiento de una enfermedad, el ARN se puede modificar o suministrar de forma alternativa

utilizando un sistema de suministro farmacológico; ambos métodos actúan para prevenir la degradación rápida del ARNbc por parte de endo- y exonucleasas *in vivo*.

La modificación del ARN o el portador farmacéutico también puede permitir el direccionamiento de la composición de ARNi hacia el tejido diana y evitar efectos laterales no deseados. Las moléculas de ARNi se pueden modificar mediante una conjugación química con otros grupos, p. ej., un grupo que sea un lípido o un carbohidrato según se describe en la presente. Tales conjugados se pueden utilizar para dirigir el ARNi hacia células particulares, p. ej., células hepáticas, p. ej., hepatocitos. Por ejemplo, se pueden utilizar conjugados de tipo GalNAc o formulaciones lipídicas (p. ej., LNP) para dirigir el ARNi hacia células particulares, p. ej., células hepáticas, p. ej., hepatocitos.

Se pueden utilizar grupos lipófilos, tales como el colesterol, para potenciar la captación celular y evitar la degradación. Por ejemplo, se inyectó un ARNi dirigido contra ApoB conjugado con un resto de colesterol lipófilo por vía sistémica en ratones y provocó la supresión del ARNm de apoB tanto en el hígado como en el yeyuno (Soutschek, J. *et al*. (2004) *Nature* 432:173-178). Se ha demostrado que la conjugación de un ARNi con un aptámero inhibe el crecimiento tumoral y media la regresión tumoral

en un modelo de cáncer de próstata en ratón (McNamara, JO. *et al.* (2006) *Nat. Biotechnol.* 24:1005-1015). En una realización alternativa, el ARNi se puede suministrar utilizando sistemas de suministro farmacológico tales como una nanopartícula, un dendrímero, un polímero, liposomas o un sistema de suministro catiónico. Los sistemas de suministro catiónico de carga positiva facilitan la unión de una molécula de ARNi (cargada negativamente) y también potencian las interacciones en la membrana celular cargada negativamente para permitir una captación eficaz de un ARNi por parte de la célula. Los lípidos catiónicos, dendrímeros o polímeros o bien se pueden unir a un ARNi o pueden ser inducidos para que formen una vesícula o micela (remítase, p. ej., a Kim SH. *et al*. (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116), la cual encierra un ARNi. La formación de vesículas o micelas previene adicionalmente la degradación del ARNi cuando se administra por vía sistémica. Un experto en la técnica estará familiarizado con los métodos para preparar y administrar complejos de ARNi catiónicos (remítase, p. ej., a Sorensen, DR. *et al*. (2003) *J. Mol. Biol* 327:761-766; Verma, UN. *et al.* (2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300; Arnold, AS *et al*. (2007) *J. Hypertens.* 25:197-205, los cuales se incorporan a la presente por referencia en su totalidad). Algunos ejemplos no limitantes de sistemas de suministro farmacológico

utilizados para el suministro sistémico de ARNi incluyen DOTAP (Sorensen, DR. *et al*. (2003), mencionado anteriormente; Verma, UN. *et al*. (2003), mencionado anteriormente), Oligofectamina, "partículas sólidas de ácido nucleico-lípido" (Zimmermann, TS. *et al.* (2006) *Nature* 441:111-114), cardiolipina (Chien, PY. *et al.* (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328; Pal, A. *et al.* (2005) *Int J. Oncol.* 26:1087-1091), polietilenimina (Bonnet ME. *et al.* (2008) *Pharm. Res.* 16 de agosto, publicación electrónica previa a la impresa; Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 71659), péptidos Arg-Gly-Asp (RGD) (Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487) y poliamidoaminas (Tomalia, DA. *et al.* (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67; Yoo, H. *et al.* (1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804). En algunas realizaciones, un ARNi forma un complejo con una ciclodextrina para la administración sistémica. Se pueden consultar métodos de administración y composiciones farmacéuticas de ARNi y ciclodextrinas en la Patente de EE. UU. N.º 7. 427.605, la cual se incorpora a la presente por referencia en su totalidad.

ARNi codificados en vectores

En otro aspecto, un ARNi que tiene como diana el gen LECT2 se puede expresar a partir de unidades de transcripción insertadas en vectores de ADN o ARN (remítase, p. ej., a Couture, A *et al*., *TIG.* (1996), 12:5-

10; Skillern, A. *et al*., Publicación de PCT Internacional N.º WO 00/22113, Conrad, Publicación de PCT Internacional N.º WO 00/22114 y Conrad, Pat. de EE. UU. N.º 6.054.299). La expresión puede ser transitoria (del orden de horas a semanas) o sostenida (de semanas a meses o más prolongada), dependiendo del constructo específico utilizado y del tejido o tipo celular diana. Estos transgenes se pueden introducir como un constructo lineal, un plásmido circular o un vector vírico, el cual puede ser un vector integrador o no integrador. El transgén también se puede construir de modo que se permita que sea heredado como un plásmido extracromosómico (Gassmann *et al*., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1995) 92:1292).

La hebra individual o las hebras de un ARNi se pueden transcribir a partir de un promotor en un vector de expresión. Cuando se han de expresar dos hebras separadas para generar, por ejemplo, un ARNbc, se pueden introducir conjuntamente dos vectores de expresión separados (p. ej., mediante transfección o infección) en una célula diana. Como alternativa, cada hebra individual de un ARNbc puede ser transcrita por promotores que estén ambos localizados en el mismo plásmido de expresión. En una realización, un ARNbc expresado como una repetición invertida unida mediante una secuencia polinucleotídica conectora tal como la de un ARNbc presenta una estructura de tallo y bucle.

Un vector de expresión de ARNi es normalmente un plásmido de ADN o un vector vírico. Para producir constructos recombinantes para la expresión de un ARNi según se describe en la presente, se puede utilizar un vector de expresión compatible con células eucariotas, p. ej., con células de vertebrados. Los vectores de expresión para células eucariotas son de uso común en la técnica y se pueden adquirir a partir de una serie de proveedores comerciales. Normalmente, tales vectores contienen sitios de restricción convenientes para la inserción del segmento de ácido nucleico deseado. El suministro de vectores de expresión de ARNi puede ser sistémico, por ejemplo, mediante una administración intravenosa o intramuscular, mediante una administración que tenga como diana células explantadas procedentes del paciente seguida de su reintroducción en el paciente, o mediante cualquier otro medio que permita la introducción en una célula diana deseada.

Se puede transfectar un plásmido de expresión de ARNi en una célula diana como un complejo con un portador lipídico catiónico (p. ej., Oligofectamina) o un portador basado en un lípido que no sea catiónico (p. ej., Transit-TKO™). En la invención también se contemplan múltiples transfecciones de lípidos para supresiones mediadas por ARNi que tienen como diana diferentes regiones de un ARN

diana durante un periodo de una semana o más. La introducción con éxito de vectores en células huésped se puede monitorizar utilizando varios métodos conocidos. Por ejemplo, la transfección transitoria se puede señalizar con un marcador, tal como un marcador fluorescente, tal como la proteína fluorescente verde (GFP, por sus siglas en inglés). La transfección estable de células *ex vivo* se puede garantizar utilizando marcadores que proporcionen a la célula infectada resistencia a factores medioambientales específicos (p. ej., antibióticos y fármacos), por ejemplo, resistencia a la higromicina B.

Los sistemas de vectores víricos que se pueden utilizar con los métodos y las composiciones que se describen en la presente incluyen, sin carácter limitante (a) vectores de adenovirus; (b) vectores de retrovirus, que incluyen, sin carácter limitante, vectores de lentivirus, virus de la leucemia de murinos de Moloney, etc.; (c) vectores de virus adenoasociados; (d) vectores del virus del herpes simple; (e) vectores de SV40; (f) vectores del virus del polioma; (g) vectores del virus del papiloma; (h) vectores de picornavirus; (i) vectores del virus de la varicela tal como un *orthopox*, p. ej., vectores del virus *vaccinia* o de la varicela aviar, p. ej., la varicela del canario o la varicela de aves de corral; y (j) un adenovirus "gutless" o dependiente de cooperadores. Los

virus de replicación deficiente también pueden ser beneficiosos. Los diferentes vectores se incorporarán o no al genoma de las células. Los constructos pueden incluir secuencias víricas para la transfección, cuando proceda. Como alternativa, el constructo se puede incorporar en vectores capaces de llevar a cabo una replicación episomal, p. ej., vectores EPV y EBV. Los constructos para la expresión recombinante de un ARNi generalmente requerirán elementos reguladores, p. ej., promotores, potenciadores, etc., para garantizar la expresión del ARNi en las células diana. A continuación se describen adicionalmente otros aspectos que se deben considerar para los vectores y los constructos.

Los vectores útiles para el suministro de un ARNi incluirán elementos reguladores (un promotor, potenciador, etc.) suficientes para la expresión del ARNi en la célula o el tejido diana deseado. Los elementos reguladores se pueden seleccionar para que proporcionen una expresión constitutiva o regulada/inducible.

La expresión del ARNi se puede regular de forma exacta, por ejemplo, utilizando una secuencia reguladora inducible que sea sensible a ciertos reguladores fisiológicos, p. ej., los niveles de glucosa en circulación u hormonas (Docherty *et al*., 1994, *FASEB J.* 8:20-24). Tales sistemas de expresión inducible adecuados para el control

de la expresión de ARNbc en células o en mamíferos incluyen, por ejemplo, la regulación por parte de ecdisona, por parte de un estrógeno, progesterona, tetraciclina, inductores químicos de dimerización e isopropil-β-D1-tiogalactopiranósido (IPTG). Un experto en la técnica sería capaz de seleccionar la secuencia promotora/reguladora adecuada en función del uso deseado del transgén de ARNi.

En una realización específica, se pueden utilizar vectores víricos que contengan secuencias de ácido nucleico que codifiquen un ARNi. Por ejemplo, se puede utilizar un vector retrovírico (remítase a Miller *et al.*, *Meth. Enzymol.* 217:581-599 (1993)). Estos vectores retrovíricos contienen los componentes necesarios para el empaquetamiento correcto del genoma vírico y su integración en el ADN de la célula huésped. Las secuencias de ácido nucleico que codifican un ARNi se clonan en uno o más vectores, lo cual facilita el suministro del ácido nucleico en un paciente. Se pueden consultar más detalles sobre los vectores retrovíricos, por ejemplo, en Boesen *et al.*, *Biotherapy* 6:291-302 (1994), que describe el uso de un vector retrovírico para suministrar el gen mdr1 a células madre hematopoyéticas con el fin de hacer que las células madre sean más resistentes a la quimioterapia. Otras referencias que ilustran el uso de vectores retrovíricos en

la terapia génica son: Clowes *et al.*, *J. Clin. Invest.* 93:644-651 (1994); Kiem *et al.*, *Blood* 83:1467-1473 (1994); Salmons y Gunzberg, *Human Gene Therapy* 4:129-141 (1993); y Grossman y Wilson, *Curr. Opin. in Genetics and Devel.* 3:110-114 (1993). Los vectores lentivíricos contemplados para ser utilizados incluyen, por ejemplo, los vectores basados en el VIH que se describen en las Patentes de EE. UU. N.os 6.143.520, 5.665.557 y 5.981.276, las cuales se incorporan a la presente por referencia.

También se contemplan los adenovirus para su uso en el suministro de ARNi. Los adenovirus son vehículos especialmente atractivos, p. ej., para suministrar genes a epitelios respiratorios. Los adenovirus infectan de forma natural los epitelios respiratorios, donde provocan una enfermedad leve. Otras dianas para los sistemas de suministro basados en adenovirus son el hígado, el sistema nervioso central, las células endoteliales y los músculos. Los adenovirus presentan la ventaja de que son capaces de infectar células que no se dividen. Kozarsky y Wilson, *Current Opinion in Genetics and Development* 3:499-503 (1993) presentan un artículo de revisión de la terapia génica basada en adenovirus. Bout *et al.*, Human Gene Therapy 5:3-10 (1994) demostraron el uso de vectores de adenovirus para transferir genes a los epitelios respiratorios de monos rhesus. Se pueden encontrar otros

ejemplos del uso de adenovirus en terapia génica en Rosenfeld *et al*., *Science* 252:431-434 (1991); Rosenfeld *et al*., *Cell* 68:143-155 (1992); Mastrangeli *et al*., *J. Clin. Invest.* 91:225-234 (1993); la Publicación de PCT WO94/12649; y Wang *et al*., *Gene Therapy* 2:775-783 (1995). En Xia H *et al*. (2002), *Nat. Biotech*. 20: 1006-1010 se describe un vector de AV adecuado para expresar un ARNi que se expone en la invención, un método para construir el vector de AV recombinante y un método para suministrar el vector en células diana.

También se contempla el uso de virus adenoasociados (AAV) (Walsh *et al*., Proc. *Soc. Exp. Biol. Med.* 204:289-300 (1993); Pat. de EE. UU. N.º 5.436.146). En una realización, el ARNi se puede expresar como dos moléculas de ARN bicatenarias complementarias separadas a partir de un vector de AAV recombinante que tenga, por ejemplo, promotores de ARN de H1 o U6, o el promotor de citomegalovirus (CMV). Algunos vectores de AAV adecuados para expresar los ARNbc que se exponen en la invención, métodos para construir el vector de AV recombinante y métodos para suministrar los vectores en las células diana se describen en Samulski R *et al*. (1987), *J. Virol.* 61: 3096-3101; Fisher K J *et al*. (1996), *J. Virol.*, 70: 520-532; Samulski R *et al*. (1989), *J. Virol.* 63: 3822-3826; Pat. de EE. UU. N.º 5.252.479; Pat. de EE. UU. N.º

5.139.941; Solicitud de Patente Internacional N.º WO 94/13788; y Solicitud de Patente Internacional N.º WO 93/24641, cuyas descripciones enteras se incorporan a la presente por referencia.

Otro vector vírico típico es un virus de la varicela tal como un virus *vaccinia*, por ejemplo, un virus *vaccinia* atenuado tal como el virus modificado Ankara (MVA) o NYVAC, un virus de la varicela aviar tal como la varicela de aves de corral o la varicela del canario.

El tropismo de los vectores víricos se puede modificar mediante el pseudotipado de vectores con proteínas de la envoltura u otros antígenos de superficie procedentes de otros virus, o mediante la sustitución de diferentes proteínas de la cápside vírica, según sea conveniente. Por ejemplo, los vectores lentivíricos pueden ser pseudotipados con proteínas de superficie procedentes de virus de la estomatitis vesicular (VSV), rabias, Ebola, Mokola y similares. Se pueden preparar vectores de AAV que tengan como diana diferentes células modificando genéticamente los vectores para que expresen diferentes serotipos de proteínas de la cápside; remítase, p. ej., a Rabinowitz J E *et al*. (2002), *J Virol* 76:791-801, cuya descripción entera se incorpora a la presente por referencia.

El preparado farmacéutico de un vector puede incluir el vector en un diluyente aceptable o puede incluir una

matriz de liberación lenta en la cual se encuentre embebido el vehículo de suministro génico. Como alternativa, cuando el vector de suministro génico completo se pueda producir intacto a partir de células recombinantes, p. ej., vectores retrovíricos, el preparado farmacéutico podrá incluir una o más células que produzcan el sistema de suministro génico.

III. Composiciones farmacéuticas que contienen ARNi

En una realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen un ARNi, según se describe en la presente, y un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica que contiene el ARNi es útil para tratar una enfermedad o trastorno relacionado con la expresión o la actividad de un gen LECT2 (p. ej., una amiloidosis de LECT2). Tales composiciones farmacéuticas se formulan en función del modo de suministro. Por ejemplo, las composiciones se pueden formular para una administración sistémica mediante un suministro parenteral, p. ej., mediante un suministro intravenoso (IV). En algunas realizaciones, una composición proporcionada en la presente (p. ej., una formulación LNP) se formula para un suministro intravenoso. En algunas realizaciones, una composición proporcionada en la presente (p. ej., una composición que comprende un conjugado de tipo GalNAc) se formula para un suministro subcutáneo.

Las composiciones farmacéuticas que se exponen en la presente se administran con una dosis suficiente para inhibir la expresión de un gen LECT2. En general, una dosis adecuada de ARNi estará comprendida en el intervalo de 0.01 a 200.0 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor por día, generalmente en el intervalo de 1 a 50 mg por kilogramo de peso corporal por día. Por ejemplo, se pueden administrar 0.05 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 1.5 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg, 40 mg/kg o 50 mg/kg del ARNbc en cada dosis. La composición farmacéutica se puede administrar una vez al día o el ARNi se puede administrar como dos, tres o más subdosis en intervalos adecuados a lo largo del día o incluso utilizando una infusión continua o un suministro a través de una formulación de liberación controlada. En este caso, la cantidad de ARNi contenida en cada subdosis debe ser correspondientemente menor con el fin de obtener la dosis diaria total. La unidad de dosificación también se puede componer para que se suministre durante varios días, p. ej., utilizando una formulación de liberación sostenida convencional que proporcione una liberación sostenida del ARNi durante un periodo de varios días. Las formulaciones de liberación sostenida son de uso común en la técnica y son particularmente útiles para suministrar agentes en un sitio particular, tal como se puede utilizar con los

agentes de la presente invención. En esta realización, la unidad de dosificación contiene un múltiple correspondiente de la dosis diaria.

El efecto de una única dosis sobre los niveles de LECT2 puede tener una duración prolongada, de manera que las dosis posteriores se administran en intervalos de no más de 3, 4 o 5 días, o en intervalos de no más de 1, 2, 3 o 4 semanas.

El experto apreciará que ciertos factores pueden ejercer un efecto sobre la dosis y el tiempo requerido para tratar de forma eficaz a un sujeto, que incluyen, sin carácter limitante, la gravedad de la enfermedad o trastorno, los tratamientos previos, la salud general y/o la edad del sujeto, y otras enfermedades presentes. Además, el tratamiento de un sujeto con una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición puede incluir un tratamiento único o una serie de tratamientos. Las estimaciones de las dosis eficaces y las semividas *in vivo* para los ARNi individuales englobados en la invención se pueden realizar utilizando metodologías convencionales o en función de la evaluación *in vivo* utilizando un modelo animal adecuado.

Un modelo animal adecuado, p. ej., un ratón que contenga un transgén que exprese LECT2 humano, se puede utilizar para determinar la dosis terapéuticamente eficaz

y/o un régimen de dosificación eficaz de la administración del ARNip de LECT2.

La presente descripción también incluye composiciones farmacéuticas y formulaciones que incluyen los compuestos de ARNi que se exponen en la presente. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar de varias maneras dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y en función del área que se ha de tratar. La administración puede ser tópica (p. ej., mediante un parche transdérmico), pulmonar, p. ej., mediante inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, que incluyen un nebulizador; intratraqueal, intranasal, epidérmica y transdérmica, oral o parenteral. La administración parenteral incluye la inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; la administración subdérmica, p. ej., mediante un dispositivo implantado; o intracraneal, p. ej., mediante administración intraparenquimal, intratecal o intraventricular.

El ARNi se puede suministrar de modo que tenga como diana un tejido particular tal como un tejido que produzca eritrocitos. Por ejemplo, el ARNi se puede suministrar a la médula ósea, el hígado (p. ej., los hepatocitos del hígado), los nódulos linfáticos, el bazo, los pulmones (p.

ej., la pleura de los pulmones) o la columna vertebral. En una realización, el ARNi se suministra a la médula ósea.

Las composiciones farmacéuticas y las formulaciones para la administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, ungüentos, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, aerosoles, líquidos y polvos. Pueden resultar necesarios o deseables portadores farmacéuticos convencionales, bases oleosas, acuosas o en polvo, espesantes y similares. También pueden resultar útiles condones recubiertos, guantes y similares. Las formulaciones tópicas adecuadas incluyen aquellas en las que los ARNi que se exponen en la invención se encuentran en una mezcla con un agente de suministro tópico tal como lípidos, liposomas, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, esteroides, agentes quelantes y surfactantes. Los lípidos y liposomas adecuados incluyen los que son neutros (p. ej., dioleoilfosfatidiletanolamina DOPE, dimiristoilfosfatidilcolina DMPC, diestearoilfosfatidilcolina) negativos (p. ej., dimiristoilfosfatidilglicerol DMPG) y catiónicos (p. ej., dioleoiltetrametilaminopropilo DOTAP y dioleoilfosfatidiletanolamina DOTMA). Los ARNi que se exponen en la invención se pueden enapsular dentro de liposomas o pueden formar complejos con ellos, en particular con liposomas catiónicos. Como alternativa, los

ARNi pueden formar complejos con lípidos, en particular con lípidos catiónicos. Los ácidos grasos y ésteres adecuados incluyen, sin carácter limitante, ácido araquidónico, ácido oleico, ácido eicosanoico, ácido láurico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido linolénico, dicaprato, tricaprato, monooleína, dilaurina, 1-monocaprato de glicerilo, 1-dodecilazaciclohéptan-2-ona, una acilcarnitina, una acilcolina o un éster de alquilo C_{1-20} (p. ej., isopropilmiristato IPM), monoglicérido, diglicérido o una sal farmacéuticamente aceptable de estos. Las formulaciones tópicas se describen con detalle en la Patente de EE. UU. N.º 6.747.014, la cual se incorpora a la presente por referencia.

Formulaciones de liposomas

Existen muchas estructuras de surfactantes organizadas, además de las microemulsiones, que han sido estudiadas y utilizadas para la formulación de fármacos. Estas incluyen monocapas, micelas, bicapas y vesículas. Las vesículas, tales como los liposomas, han despertado mucho interés debido a su especificidad y duración de la acción que ofrecen desde el punto de vista del suministro farmacológico. El término "liposoma", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a una vesícula

compuesta por lípidos anfifílicos dispuestos en una bicapa o bicapas esféricas.

Los liposomas son vesículas unilamelares o multilamelares que contienen una membrana formada de un material lipófilo y un interior acuoso. La porción acuosa contiene la composición que se ha de suministrar. Los liposomas catiónicos poseen la ventaja de que son capaces de fusionarse con la pared celular. Los liposomas no catiónicos, aunque no son capaces de fusionarse tan eficazmente con la pared celular, son captados por los macrófagos *in vivo*.

Con el fin de atravesar la piel de los mamíferos y mantenerse intactas, las vesículas lipídicas deben pasar a través de una serie de poros finos, cada uno de ellos con un diámetro inferior a 50 nm, bajo la influencia de un gradiente transdérmico adecuado. Por consiguiente, es deseable utilizar un liposoma que se pueda deformar en gran medida y que sea capaz de pasar a través de estos poros finos.

Otras ventajas de los liposomas incluyen: los liposomas obtenidos a partir de fosfolípidos naturales son biocompatibles y biodegradables; los liposomas pueden incorporar una amplia gama de fármacos solubles en agua y lípidos; los liposomas pueden proteger fármacos encapsulados en sus compartimentos internos frente al

metabolismo y la degradación (Rosoff, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 245). Algunas consideraciones importantes en la preparación de formulaciones de liposomas son la carga superficial del lípido, el tamaño de la vesícula y el volumen acuoso de los liposomas.

Los liposomas son útiles para transferir y suministrar principios activos al sitio de acción. Debido a que la membrana de los liposomas es estructuralmente similar a las membranas biológicas, cuando los liposomas se aplican a un tejido, los liposomas se empiezan a fusionar con las membranas celulares y, a medida que la fusión de los liposomas y la célula avanza, los contenidos de los liposomas se vierten en la célula, donde el agente activo puede actuar.

Las formulaciones de liposomas han sido el centro de investigaciones exhaustivas como el modo de suministro para muchos fármacos. Cada vez existen más evidencias de que, para la administración tópica, los liposomas presentan varias ventajas en comparación con otras formulaciones. Tales ventajas incluyen una reducción de los efectos laterales relacionados con una absorción sistémica elevada del fármaco administrado, un incremento de la acumulación del fármaco administrado en la diana deseada y la capacidad

de administrar una amplia variedad de fármacos, tanto hidrófilos como hidrófobos, en la piel.

Varios informes han detallado la capacidad de los liposomas para suministrar agentes, incluido el ADN de peso molecular elevado, en la piel. Se han administrado a la piel compuestos que incluyen analgésicos, anticuerpos, hormonas y ADN de peso molecular elevado. La mayoría de aplicaciones actuaron sobre la epidermis superior.

Los liposomas se clasifican en dos grandes clases. Los liposomas catiónicos son liposomas de carga positiva que interaccionan con las moléculas de ADN de carga negativa para formar un complejo estable. El complejo de ADN/liposoma de carga positiva se une a la superficie celular de carga negativa y se interioriza en un endosoma. Debido al pH ácido del interior del endosoma, los liposomas se fracturan y liberan sus contenidos en el interior del citoplasma celular (Wang *et al*., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987, 147, 980-985).

Los liposomas que son sensibles al pH o de carga negativa, atrapan el ADN en lugar de complejarse con él. Debido a que tanto el ADN como el lípido tienen una carga similar, se produce una repulsión en lugar de la formación de un complejo. A pesar de ello, parte del ADN queda atrapado en el interior acuoso de estos liposomas. Los liposomas sensibles al pH han sido utilizados para

suministrar ADN que codifica el gen de la timidina-cinasa a monocapas celulares en cultivo. Se detectó la expresión del gen exógeno en las células diana (Zhou *et al*., *Journal of Controlled Release*, 1992, 19, 269-274).

Un tipo principal de composición de liposomas incluye fosfolípidos distintos de la fosfatidilcolina de origen natural. Las composiciones de liposomas neutros se pueden formar, por ejemplo, a partir de dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) o dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC). Las composiciones de liposomas aniónicos se forman en general a partir de dimiristoilfosfatidilglicerol, mientras que los liposomas fusogénicos aniónicos se forman principalmente a partir de dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE). Otro tipo de composición de liposomas se forma a partir de fosfatidilcolina (PC) tal como, por ejemplo, PC de soja y PC de huevo. Otro tipo se forma a partir de mezclas de un fosfolípido y/o fosfatidilcolina y/o colesterol.

Varios estudios han evaluado el suministro tópico de formulaciones farmacológicas de liposomas en la piel. La aplicación de liposomas que contenían interferón a la piel de conejillos de Índias dio como resultado una reducción de úlceras de herpes en la piel, mientras que el suministro de interferón por otros medios (p. ej., como una solución o como una emulsión) no fue eficaz (Weiner *et al*., *Journal of*

Drug Targeting, 1992, 2, 405-410). Además, un estudio adicional evaluó la eficacia del interferón administrado como parte de una formulación de liposomas en comparación con la administración del interferón utilizando un sistema acuoso, y llegó a la conclusión de que la formulación de liposomas era mejor que la administración acuosa (du Plessis *et al*., *Antiviral Research*, 1992, 18, 259-265).

También se han examinado sistemas de liposomas no iónicos para determinar su utilidad en el suministro de fármacos a la piel, en particular sistemas que comprenden un surfactante no iónico y colesterol. Se utilizaron formulaciones de liposomas no iónicos que comprendían Novasome™ I (dilaurato de glicerilo/colesterol/éter polioxietilen-10-estearílico) y Novasome™ II (diestearato de glicerilo/colesterol/éter polioxietilen-10-estearílico) para suministrar ciclosporina A en la dermis de piel de ratón. Los resultados indicaron que tales sistemas de liposomas no iónicos eran eficaces a la hora de facilitar la deposición de la ciclosporina A en diferentes capas de la piel (Hu *et al*. *S.T.P.Pharma. Sci.*, 1994, 4, 6, 466).

Los liposomas también incluyen liposomas "estabilizados estéricamente", un término que, tal como se utiliza en la presente, se refiere a liposomas que comprenden uno o más lípidos especializados que, cuando se incorporan en los liposomas, proporcionan unos tiempos de

vida en circulación mejorados en comparación con los liposomas que carecen de tales lípidos especializados. Los ejemplos de liposomas estabilizados estéricamente son aquellos en los que parte de la porción lipídica del liposoma que forma las vesículas (A) comprende uno o más glicolípidos, tales como el monosialoganglíosido G_{M1}, o (B) se derivatiza con uno o más polímeros hidrófilos, tales como un resto de polietilenglicol (PEG). Sin pretender vincularse a ninguna teoría particular, se cree en la técnica que, al menos para los liposomas estabilizados estéricamente que contienen gangliósidos, esfingomielina o lípidos derivatizados con PEG, la semivida en circulación mejorada de estos liposomas estabilizados estéricamente procede de una reducción de la captación en células del sistema reticuloendotelial (RES) (Allen *et al*., *FEBS Letters*, 1987, 223, 42; Wu *et al*., *Cancer Research*, 1993, 53, 3765).

En la técnica se conocen varios liposomas que comprenden uno o más glicolípidos. Papahadjopoulos *et al*. (*Ann. N.Y.* Acad. *Sci.*, 1987, 507, 64) han descrito la capacidad del monosialoganglíosido G_{M1}, el sulfato de galactocerebrósido y el fosfatidilinositol para mejorar las semividas en sangre de los liposomas. Estos resultados fueron corroborados por Gabizon *et al*. (*Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.A.*, 1988, 85, 6949). La Pat. de EE. UU. N.º

4.837.028 y WO 88/04924, ambas de Allen *et al.*, describen liposomas que comprenden (1) esfingomielina y (2) el ganglиósido G_{M1} o un éster de tipo sulfato de un galactocerebrósido. La Pat. de EE. UU. N.º 5.543.152 (Webb *et al.*) describe liposomas que comprenden esfingomielina. En WO 97/13499 (Lim *et al.*) se describen liposomas que comprenden 1,2-sn-dimiristoilfosfatidilcolina.

En la técnica se han descrito muchos liposomas que comprenden lípidos derivatizados con uno o más polímeros hidrófilos y métodos para prepararlos. Sunamoto *et al.* (*Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1980, 53, 2778) han descrito liposomas que comprenden un detergente no iónico, $2C_{1215G}$, que contiene un resto de PEG. Illum *et al.* (*FEBS Lett.*, 1984, 167, 79) descubrieron que un recubrimiento hidrófilo de partículas de poliestireno con glicoles poliméricos proporcionaba unas semividas en sangre significativamente mejoradas. Sears (Pat. de EE. UU. N.os 4.426.330 y 4.534.899) ha descrito fosfolípidos sintéticos modificados mediante la unión de grupos carboxílicos de polialquilenglicoles (p. ej., PEG). Klibanov *et al.* (*FEBS Lett.*, 1990, 268, 235) han descrito experimentos que demuestran que los liposomas que comprenden fosfatidiletanolamina (PE) derivada con PEG o estearato de PEG presentan incrementos significativos de las semividas en circulación en sangre. Blume *et al.* (*Biochimica et*

Biophysica Acta, 1990, 1029, 91) extendieron estas observaciones a otros fosfolípidos derivatizados con PEG, p. ej., DSPE-PEG, formados a partir de la combinación de diestearoilfosfatidiletanolamina (DSPE) y PEG. Se han descrito liposomas que tienen restos de PEG unidos covalentemente en su superficie externa en la Patente Europea N.º EP 0 445 131 B1 y en WO 90/04384 de Fisher. Woodle *et al*. (Pat. de EE. UU. N.ºs 5.013.556 y 5.356.633) y Martin *et al*. (Pat. de EE. UU. N.º 5.213.804 y Patente Europea N.º EP 0 496 813 B1) han descrito composiciones de liposomas que contienen un porcentaje molar de 1-20 de PE derivatizado con PEG y métodos para utilizarlas. En WO 91/05545 y la Pat. de EE. UU. N.º 5.225.212 (ambas de Martin *et al*.) y en WO 94/20073 (Zalipsky *et al*.) se describen liposomas que comprenden una serie de conjugados de lípido-polímero diferentes. En WO 96/10391 (Choi *et al.*) se describen liposomas que comprenden lípidos de ceramida modificados con PEG. La Pat. de EE. UU. N.º 5.540.935 (Miyazaki *et al*.) y la Pat. de EE. UU. N.º 5.556.948 (Tagawa *et al*.) describen liposomas que contienen PEG y que se pueden derivatizar adicionalmente con restos funcionales en sus superficies.

En la técnica se conocen varios liposomas que comprenden ácidos nucleicos. El documento WO 96/40062 de Thierry *et al*. describe métodos para encapsular ácidos

nucleicos de peso molecular elevado en liposomas. La Pat. de EE. UU. N.º 5.264.221 de Tagawa *et al*. describe liposomas unidos a proteínas y afirma que los contenidos de tales liposomas pueden incluir un ARNbc. La Pat. de EE. UU. N.º 5.665.710 de Rahman *et al*. describe ciertos métodos para encapsular oligodesoxinucleótidos en liposomas. El documento WO 97/04787 de Love *et al*. describe liposomas que comprenden ARNbc que tienen como diana el gen raf.

Los transfersomas son otro tipo más de liposomas y son agregados lipídicos que se pueden deformar en gran medida, los cuales son candidatos atractivos para ser utilizados como vehículos de suministro farmacológico. Los transfersomas se pueden describir como gotículas lipídicas que se pueden deformar tanto que son capaces de penetrar fácilmente a través de poros que sean más pequeños que la gotícula. Los transfersomas se pueden adaptar al entorno en el cual se utilizan, p. ej., se pueden autooptimizar (se pueden adaptar a la forma de los poros en la piel), se pueden autoreparar, frecuentemente llegan a sus dianas sin sufrir fragmentación y a menudo se pueden autocargar. Para preparar transfersomas, es posible añadir activadores de los bordes superficiales, normalmente surfactantes, a la composición de liposomas estándar. Los transfersomas han sido utilizados para suministrar albúmina de suero a la piel. Se ha demostrado que el suministro mediado por

transfersomas de la albúmina de suero es tan eficaz como la inyección subcutánea de una solución que contenga albúmina de suero.

Los surfactantes se aplican de forma generalizada en formulaciones tales como emulsiones (incluidas las microemulsiones) y liposomas. La manera más común de clasificar y puntuar las propiedades de los numerosos tipos diferentes de surfactantes, tanto naturales como sintéticos, es mediante el uso del equilibrio hidrófilo/lipófilo (HLB, por sus siglas en inglés). La naturaleza del grupo hidrófilo (que también se conoce como la "cabeza") proporciona el medio más útil para clasificar los diferentes surfactantes utilizados en las formulaciones (Rieger, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., 1988, pág. 285).

Si la molécula de surfactante no está ionizada, se clasifica como un surfactante no iónico. Los surfactantes no iónicos se aplican de forma generalizada en productos cosméticos y farmacéuticos, y se pueden utilizar en un amplio intervalo de valores de pH. En general, sus valores de HLB están comprendidos entre 2 y aproximadamente 18, dependiendo de su estructura. Los surfactantes no iónicos incluyen ésteres no iónicos tales como ésteres de etilenglicol, ésteres de propilenglicol, ésteres de glicerilo, ésteres de poliglicerilo, ésteres de sorbitán,

ésteres de sacarosa y ésteres etoxilados. Las alcanolamidas y los éteres no iónicos, tales como los alcoholes grasos etoxilados, alcoholes propoxilados, polímeros en bloque etoxilados/propoxilados, también se incluyen en esta clase. Los surfactantes de polioxietileno son los miembros más populares de la clase de surfactantes no iónicos.

Si la molécula de surfactante tiene una carga negativa cuando se disuelve o dispersa en agua, el surfactante se clasifica como aniónico. Los surfactantes aniónicos incluyen carboxilatos tales como jabones, acillactilatos, amidas acílicas de aminoácidos, ésteres del ácido sulfúrico tales como alquilsulfatos y alquilsulfatos etoxilados, sulfonatos tales como alquilbencenosulfonatos, acilisotionatos, aciltauratos y sulfosuccinatos, y fosfatos. Los miembros más importantes de la clase de surfactantes aniónicos son los alquilsulfatos y los jabones.

Si la molécula de surfactante tiene una carga positiva cuando se disuelve o dispersa en agua, el surfactante se clasifica como catiónico. Los surfactantes catiónicos incluyen sales de amonio cuaternario y aminas etoxiladas. Las sales de amonio cuaternario son los miembros más utilizados de esta clase.

Si la molécula de surfactante tiene la capacidad de tener tanto una carga positiva como negativa, el

surfactante se clasifica como anfótero. Los surfactantes anfóteros incluyen derivados del ácido acrílico, alquilamidas sustituidas, *N*-alquilbetaínas y fosfátidos.

El uso de surfactantes en productos farmacológicos, formulaciones y en emulsiones ha sido objeto de artículos de revisión (Rieger, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., 1988, pág. 285).

Partículas de ácido nucleico-lípido

En una realización, un ARNbc de LECT2 que se expone en la invención está totalmente encapsulado en la formulación lipídica, p. ej., para formar una partícula de SPLP, pSPLP, SNALP u otra partícula de ácido nucleico-lípido. El término "SNALP", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una partícula de ácido nucleico-lípido estable, incluida una SPLP. El término "SPLP", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una partícula de ácido nucleico-lípido que comprende ADN plasmídico encapsulado dentro de una vesícula lipídica. Las SNALP y SPLP contienen normalmente un lípido catiónico, un lípido no catiónico y un lípido que evita la agregación de la partícula (p. ej., un conjugado de PEG- lípido). Las SNALP y SPLP son extremadamente útiles para las aplicaciones sistémicas, ya que exhiben unos tiempos de vida en circulación extendidos tras su inyección intravenosa (i.v.) y se acumulan en sitios alejados (p. ej., sitios separados físicamente del

sitio de administración). Las SPLP incluyen "pSPLP", las cuales incluyen un complejo de ácido nucleico-agente de condensación encapsulado, según se expone en la Publicación de PCT N.º WO 00/03683. Las partículas de la presente invención tienen normalmente un diámetro medio comprendido entre aproximadamente 50 nm y aproximadamente 150 nm, más habitualmente entre aproximadamente 60 nm y aproximadamente 130 nm, más habitualmente entre aproximadamente 70 nm y aproximadamente 110 nm, de la forma más habitual entre aproximadamente 70 nm y aproximadamente 90 nm y son sustancialmente atóxicas. Además, los ácidos nucleicos, cuando están presentes en las partículas de ácido nucleico-lípido de la presente invención, son resistentes en solución acuosa a la degradación por parte de una nucleasa. Las partículas de ácido nucleico-lípido y su método de preparación se describen, p. ej., en las Patentes de EE. UU. N.ºs 5.976.567, 5.981.501, 6.534.484, 6.586.410, 6.815.432 y la Publicación de PCT N.º WO 96/40964.

En una realización, la proporción de lípido frente a fármaco (proporción de masa/masa) (p. ej., proporción de lípido frente a ARNbc) estará comprendida en el intervalo de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 50:1, de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 25:1, de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 15:1, de aproximadamente 4:1 a aproximadamente 10:1, de

aproximadamente 5:1 a aproximadamente 9:1 o de aproximadamente 6:1 a aproximadamente 9:1.

El lípido catiónico puede ser, por ejemplo, cloruro de *N*,*N*-dioleil-*N*,*N*-dimetilamonio (DODAC), bromuro de *N*,*N*-diestearil-*N*,*N*-dimetilamonio (DDAB), cloruro de *N*-(I-(2,3-dioleoiloxi)propil)-*N*,*N*,*N*-trimetilamonio (DOTAP), cloruro de *N*-(I-(2,3-dioleiloxi)propil)-*N*,*N*,*N*-trimetilamonio (DOTMA), *N*,*N*-dimetil-2,3-dioleiloxi)propilamina (DODMA), 1,2-dilinoleiloxi-*N*,*N*-dimetilaminopropano (DLinDMA), l,2-dilinoleniloxi-*N*,*N*-dimetilaminopropano (DLenDMA), 1,2-dilinoleilcarbamoiloxi-3-dimetilaminopropano (DLin-C-DAP), 1,2-dilinoleioxi-3-(dimetilamino)acetoxipropano (DLin-DAC), 1,2-dilinoleioxi-3-morfolinopropano (DLin-MA), 1,2-dilinoleoil-3-dimetilaminopropano (DLinDAP), 1,2-dilinoleiltio-3-dimetilaminopropano (DLin-S-DMA), 1-linoleoil-2-linoleiloxi-3-dimetilaminopropano (DLin-2-DMAP), sal de tipo cloruro de 1,2-dilinoleiloxi-3-trimetilaminopropano (DLin-TMA.Cl), sal de tipo cloruro de 1,2-dilinoleoil-3-trimetilaminopropano (DLin-TAP.Cl), 1,2-dilinoleiloxi-3-(*N*-metilpiperazino)propano (DLin-MPZ) o 3-(*N*,*N*-dilinoleilamino)-1,2-propanodiol (DLinAP), 3-(*N*,*N*-dioleilamino)-1,2-propanodiol (DOAP), 1,2-dilinoleiloxo-3-(2-*N*,*N*-dimetilamino)etoxipropano (DLin-EG-DMA), l,2-dilinoleniloxi-*N*,*N*-dimetilaminopropano (DLinDMA), 2,2-dilinoleil-4-dimetilaminometil-[1,3]-dioxolano (DLin-K-DMA)

o análogos de este, (3*aR*,5*S*,6*aS*)-*N*,*N*-dimetil-2,2-di((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienil)tetrahidro-3*aH*-ciclopenta[*d*][1,3]dioxol-5-amina (ALN100), 4-(dimetilamino)butanoato de (6*Z*,9*Z*,28*Z*,31*Z*)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ilo (MC3), 1,1'-(2-(4-(2-((2-(bis(2-hidroxidodecil)amino)etil)(2-hidroxidodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etilazanodiil)didodecan-2-ol (Tech G1) o una mezcla de estos. El lípido catiónico puede comprender de aproximadamente un 20% mol a aproximadamente un 50% mol o aproximadamente un 40% mol del lípido total presente en la partícula.

En otra realización, se puede utilizar el compuesto 2,2-dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano para preparar nanopartículas de lípido-ARNip. La síntesis de 2,2-dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano se describe en la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos número 61/107.998, presentada el 23 de octubre de 2008, la cual se incorpora a la presente por referencia.

En una realización, la partícula de lípido-ARNip incluye un 40% de 2,2-dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano: 10% de DSPC: 40% de colesterol: 10% de PEG-C-DOMG (porcentaje molar) con un tamaño de partícula de 63.0 ± 20 nm y una proporción de ARNip/lípido de 0.027.

El lípido no catiónico puede ser un lípido aniónico o un lípido neutro, que incluye, sin carácter limitante, diestearoilfosfatidilcolina (DSPC), dioleoilfosfatidilcolina (DOPC), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), dioleoilfosfatidilglicerol (DOPG), dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG), dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE), palmitoiloleoilfosfatidilcolina (POPC), palmitoiloleoilfosfatidiletanolamina (POPE), 4-(*N*-maleimidometil)ciclohexan-l- carboxilato de dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE-mal), dipalmitoilfosfatidiletanolamina (DPPE), dimiristoilfosfoetanolamina (DMPE), diestearoilfosfatidiletanolamina (DSPE), 16-*O*-monometil-PE, 16-*O*-dimetil-PE, 18-1-*trans*-PE, 1-estearoil-2-oleoilfosfatidiletanolamina (SOPE), colesterol o una mezcla de estos. El lípido no catiónico puede constituir de aproximadamente un 5% mol a aproximadamente un 90% mol, aproximadamente un 10% mol o aproximadamente un 58% mol si se incluye colesterol, del lípido total presente en la partícula.

El conjugado de lípido que inhibe la agregación de partículas puede ser, por ejemplo, un polietilenglicol (PEG)-lípido, que incluye, sin carácter limitante, un PEG-

diacilglicerol (DAG), un PEG-dialquiloxipropilo (DAA), un PEG-fosfolípido, un PEG-ceramida (Cer) o una mezcla de estos. El conjugado de PEG-DAA puede ser, por ejemplo, un PEG-dilauriloxipropilo (Ci_2), un PEG-dimiristiloxipropilo (Ci_4), un PEG-dipalmitiloxipropilo (Ci_6) o un PEG-diestеariloxipropilo ($C]_8$). El lípido conjugado que evita la agregación de partículas puede constituir desde un 0% mol hasta aproximadamente un 20% mol o aproximadamente un 2% mol del lípido total presente en la partícula.

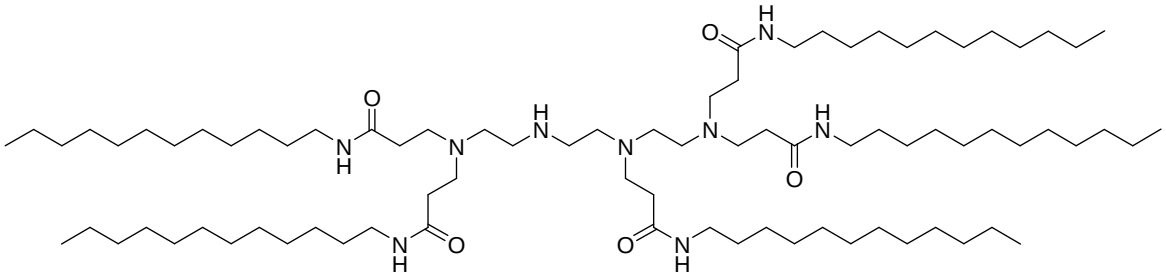
En algunas realizaciones, la partícula de ácido nucleico-lípido incluye además colesterol con una concentración comprendida, p. ej., entre aproximadamente un 10% mol y aproximadamente un 60% mol o de aproximadamente un 48% mol del lípido total presente en la partícula.

En algunas realizaciones, el ARNi se formula en una nanopartícula lipídica (LNP).

LNP01

En una realización, se pueden utilizar el lipidoide ND98·4HCl (PM 1487) (remítase a la Solicitud de Patente de EE. UU. N.º 12/056.230, presentada el 26/3/2008, la cual se incorpora a la presente por referencia), colesterol (Sigma-Aldrich) y PEG-ceramida C16 (Avanti Polar Lipids) para preparar nanopartículas de lípido-ARNbc (p. ej., partículas LNP01). Se pueden preparar soluciones patrón de cada uno de ellos en etanol como se indica a continuación: ND98, 133

mg/mL; colesterol, 25 mg/mL, PEG-ceramida C16, 100 mg/mL. A continuación, las soluciones patrón de ND98, colesterol y PEG-ceramida C16 se pueden combinar en una relación molar de, p. ej., 42:48:10. La solución lipídica combinada se puede mezclar con ARNbc acuoso (p. ej., en acetato de sodio de pH 5) de manera que la concentración final de etanol sea de aproximadamente un 35-45% y la concentración final de acetato de sodio sea de aproximadamente 100-300 mM. Normalmente, las nanopartículas de lípido-ARNbc se forman espontáneamente cuando se produce la mezcla. Dependiendo de la distribución de tamaños de partícula deseada, la mezcla de nanopartículas resultante se puede extruir a través de una membrana de policarbonato (p. ej., con un punto de corte de 100 nm) utilizando, por ejemplo, una extrusora de tambor térmico tal como la extrusora Lipex (Northern Lipids, Inc). En algunos casos, se puede omitir el paso de extrusión. Se puede conseguir eliminar el etanol e intercambiar el tampón de forma simultánea mediante, por ejemplo, diálisis o filtración de flujo tangencial. El tampón se puede intercambiar, por ejemplo, con una solución salina tamponada con fosfato (PBS) a un pH de aproximadamente 7, p. ej., un pH de aproximadamente 6.9, un pH de aproximadamente 7.0, un pH de aproximadamente 7.1, un pH de aproximadamente 7.2, un pH de aproximadamente 7.3 o un pH de aproximadamente 7.4.



ND98 Isómero I

Fórmula 1

Las formulaciones de LNP01 se describen, p. ej., en la Publicación de Solicitud Internacional N.º WO 2008/042973, la cual se incorpora a la presente por referencia.

En la tabla a continuación se proporcionan formulaciones de lípido-ARNbc ilustrativas adicionales.

Tabla 4: formulaciones lipídicas ilustrativas

	Lípido catiónico	**Conjugado de lípido catiónico/lípido no catiónico/colesterol/PEG-lípido Proporción de lípido:ARNip**
SNALP	l,2-Dilinoleniloxi-*N*,*N*-dimetilaminopropano (DLinDMA)	DLinDMA/DPPC/Colesterol/PEG-cDMA (57.1/7.1/34.4/1.4) lípido:ARNip ~ 7:1
S-XTC	2,2-Dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano (XTC)	XTC/DPPC/Colesterol/PEG-cDMA 57.1/7.1/34.4/1.4

		lípido:ARNip ~ 7:1
LNP05	2,2-Dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano (XTC)	XTC/DSPC/Colesterol/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 lípido:ARNip ~ 6:1
LNP06	2,2-Dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano (XTC)	XTC/DSPC/Colesterol/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 lípido:ARNip ~ 11:1
LNP07	2,2-Dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano (XTC)	XTC/DSPC/Colesterol/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5 lípido:ARNip ~ 6:1
LNP08	2,2-Dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano (XTC)	XTC/DSPC/Colesterol/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5 lípido:ARNip ~ 11:1
LNP09	2,2-Dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano (XTC)	XTC/DSPC/Colesterol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 10:1
LNP10	(3*aR*,5*S*,6*aS*)-*N*,*N*-dimetil-2,2-di((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienil)tetrahidro-3*aH*-ciclopenta[*d*][1,3]dioxol-5-amina (ALN100)	ALN100/DSPC/Colesterol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 10:1
LNP11	4-(Dimetilamino)butanoato de (6*Z*,9*Z*,28*Z*,31*Z*)-heptatriaconta-6,9,28,31-	MC-3/DSPC/Colesterol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5

	tetraen-19-ilo (MC3)	lípido:ARNip 10:1
LNP12	1,1'-(2-(4-(2-((2-(bis(2-hidroxidodecil)amino)etil)(2-hidroxidodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etilazanodiil)didodecan-2-ol (C12-200)	C12-200/DSPC/Colesterol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 10:1
LNP13	XTC	XTC/DSPC/Col/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 33:1
LNP14	MC3	MC3/DSPC/Col/PEG-DMG 40/15/40/5 lípido:ARNip 11:1
LNP15	MC3	MC3/DSPC/Col/PEG-DSG/GalNAc-PEG-DSG 50/10/35/4.5/0.5 lípido:ARNip 11:1
LNP16	MC3	MC3/DSPC/Col/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 7:1
LNP17	MC3	MC3/DSPC/Col/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 10:1

LNP18	MC3	MC3/DSPC/Col/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 12:1
LNP19	MC3	MC3/DSPC/Col/PEG-DMG 50/10/35/5 lípido:ARNip 8:1
LNP20	MC3	MC3/DSPC/Col/PEG-DPG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 10:1
LNP21	C12-200	C12-200/DSPC/Col/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 7:1
LNP22	XTC	XTC/DSPC/Col/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 lípido:ARNip 10:1

DSPC: diestearoilfosfatidilcolina

DPPC: dipalmitoilfosfatidilcolina

PEG-DMG: PEG-didimiristoilglicerol (C14-PEG o PEG-C14) (PEG con un peso molecular medio de 2000)

PEG-DSG: PEG-diestirilglicerol (C18-PEG o PEG-C18) (PEG con un peso molecular medio de 2000)

PEG-cDMA: PEG-carbamoil-1,2-dimiristiloxipropilamina (PEG con un peso molecular medio de 2000)

Se describen formulaciones que comprenden SNALP (l,2-dilinoleniloxi-*N*,*N*-dimetilaminopropano (DLinDMA)) en la Publicación Internacional N.º WO2009/127060, presentada el 15 de abril de 2009, la cual se incorpora a la presente por referencia.

Se describen formulaciones que comprenden XTC, p. ej., en el N.º de serie Provisional de EE. UU. 61/148.366, presentado el 29 de enero de 2009; el N.º de serie Provisional de EE. UU. 61/156.851, presentado el 2 de marzo de 2009; el N.º de serie Provisional de EE. UU. 61/185.712, presentado el 10 de junio de 2009; el N.º de serie Provisional de EE. UU. 61/228.373, presentado el 24 de julio de 2009; el N.º de serie Provisional de EE. UU. 61/239.686, presentado el 3 de septiembre de 2009, y la Solicitud Internacional N.º PCT/US2010/022614, presentada el 29 de enero de 2010, los cuales se incorporan a la presente por referencia.

Se describen formulaciones que comprenden MC3, p. ej., en el N.º de serie Provisional de EE. UU. 61/244.834, presentado el 22 de septiembre de 2009, el N.º de serie Provisional de EE. UU. 61/185.800, presentado el 10 de junio de 2009, y la Solicitud Internacional N.º PCT/US10/28224, presentada el 10 de junio de 2010, los cuales se incorporan a la presente por referencia.

Se describen formulaciones que comprenden ALNY-100, p. ej., en la Solicitud de Patente Internacional número PCT/US09/63933, presentada el 10 de noviembre de 2009, la cual se incorpora a la presente por referencia.

Se describen formulaciones que comprenden C12-200, p. ej., en el N.º de serie Provisional de EE. UU. 61/175.770, presentado el 5 de mayo de 2009, y la Solicitud Internacional N.º PCT/US10/33777, presentada el 5 de mayo de 2010, los cuales se incorporan a la presente por referencia.

Síntesis de lípidos catiónicos

Cualquiera de los compuestos, p. ej., lípidos catiónicos y similares, utilizados en las partículas de ácido nucleico-lípido que se exponen en la invención se pueden preparar mediante técnicas conocidas de síntesis orgánica. Todos los sustituyentes son como se definen a continuación, a menos que se indique de otro modo.

El término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo alifático saturado, cíclico o no cíclico, de cadena lineal o ramificada, que contiene de 1 a 24 átomos de carbono. Los alquilos saturados de cadena lineal representativos incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, *n*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo y similares; mientras que los alquilos saturados ramificados incluyen isopropilo, *sec*-butilo, isobutilo, *tert*-butilo, isopentilo y similares. Los alquilos cíclicos

saturados representativos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y similares; mientras que los alquilos cíclicos no saturados incluyen ciclopentenilo y ciclohexenilo, y similares.

El término "alquenilo" se refiere a un alquilo, como se ha definido anteriormente, que contiene al menos un doble enlace entre átomos de carbono adyacentes. Los alquenilos incluyen los isómeros tanto *cis* como *trans*. Los alquenilos de cadena lineal y ramificada representativos incluyen etilenilo, propilenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutilenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo y similares.

El término "alquinilo" se refiere a cualquier alquilo o alquenilo, como se han definido anteriormente, que contiene adicionalmente al menos un triple enlace entre átomos de carbono adyacentes. Los alquinilos de cadena lineal y ramificada representativos incluyen acetilenilo, propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-metil-1 butinilo y similares.

El término "acilo" se refiere a cualquier alquilo, alquenilo o alquinilo donde el átomo de carbono en el punto de unión se ha sustituido con un grupo oxo, según se define más adelante. Por ejemplo, -C(=O)alquilo, -C(=O)alquenilo y -C(=O)alquinilo son grupos acilo.

El término "heterociclo" se refiere a un anillo heterocíclico monocíclico de 5 a 7 miembros o bicíclico de 7 a 10 miembros, el cual está saturado, no saturado o es aromático, y el cual contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados y el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternalizado, incluidos los anillos bicíclicos en los cuales cualquiera de los heterociclos anteriores está fusionado con un anillo de benceno. El heterociclo puede estar unido mediante cualquier heteroátomo o átomo de carbono. Los heterociclos incluyen los heteroarilos, según se definen más adelante. Los heterociclos incluyen morfolinilo, pirrolidinonilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperizinilo, hidantoinilo, valerolactamilo, oxiranilo, oxetanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, tetrahidropiridinilo, tetrahidropirimidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopiranilo, tetrahidropirimidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopiranilo y similares.

Las expresiones "alquilo opcionalmente sustituido", "alquenilo opcionalmente sustituido", "alquinilo opcionalmente sustituido", "acilo opcionalmente sustituido" y "heterociclo opcionalmente sustituido" se refieren a que, cuando están sustituidos, al menos un átomo de hidrógeno se

ha reemplazado por un sustituyente. En el caso de un sustituyente oxo (=O), se han reemplazado dos átomos de hidrógeno. En este sentido, los sustituyentes incluyen oxo, halógeno, heterociclo, -CN, -OR^x, -NR^xR^y, -$NR^xC(=O)R^y$, -$NR^xSO_2R^y$, -$C(=O)R^x$, -$C(=O)OR^x$, -$C(=O)NR^xR^y$, –SO_nR^x y -$SO_nNR^xR^y$, donde n es 0, 1 o 2, R^x y R^y son iguales o diferentes y son independientemente hidrógeno, alquilo o heterociclo, y cada uno de dichos sustituyentes alquilo y heterociclo puede estar sustituido adicionalmente con uno o más de los siguientes: oxo, halógeno, -OH, -CN, alquilo, -OR^x, heterociclo, -NR^xR^y, -$NR^xC(=O)R^y$, -$NR^xSO_2R^y$, -$C(=O)R^x$, -$C(=O)OR^x$, -$C(=O)NR^xR^y$, -SO_nR^x y -$SO_nNR^xR^y$.

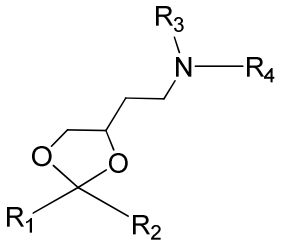
El término "halógeno" se refiere a fluoro, cloro, bromo y yodo.

En algunas realizaciones, los métodos que se exponen en la invención pueden requerir el uso de grupos protectores. Los expertos en la técnica estarán familiarizados con la metodología de grupos protectores (remítase, por ejemplo, a *Protective Groups in Organic Synthesis*, Green, T.W. *et al.*, Wiley-Interscience, Ciudad de Nueva York, 1999). Resumiendo, los grupos protectores, en el contexto de esta invención, son cualquier grupo que reduzca o elimine la reactividad no deseada de un grupo funcional. Se puede añadir un grupo protector a un grupo funcional para enmascarar su reactividad durante ciertas reacciones y

a continuación se elimina para revelar el grupo funcional original. En algunas realizaciones, se utiliza un "grupo protector de alcoholes". Un "grupo protector de alcoholes" es cualquier grupo que reduzca o elimine la reactividad no deseada de un grupo funcional de tipo alcohol. Los grupos protectores se pueden añadir y eliminar utilizando técnicas de uso común en la materia.

Síntesis de la Fórmula A

En una realización, las partículas de ácido nucleico-lípido que se exponen en la invención se formulan utilizando un líquido catiónico de fórmula A:

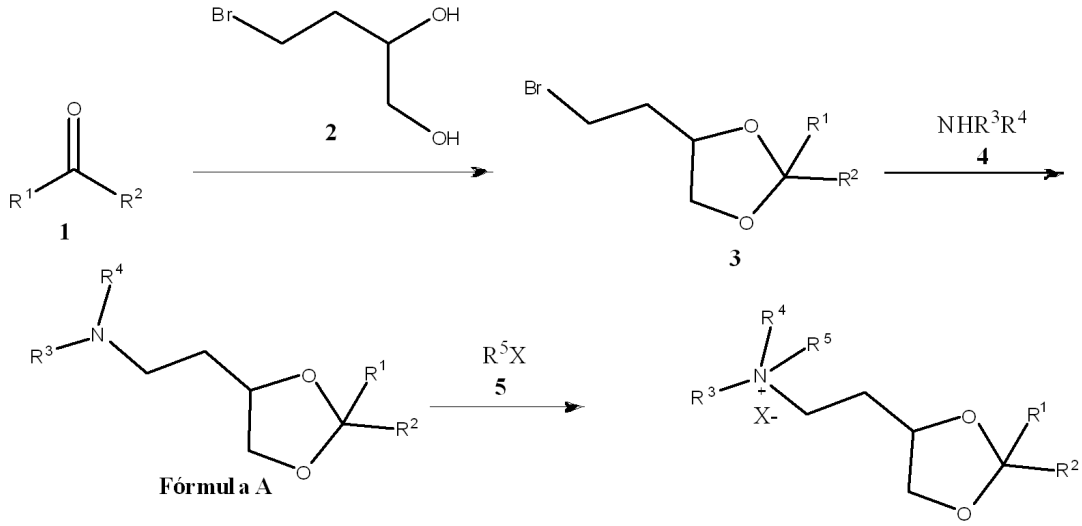


,

donde R_1 y R_2 son independientemente alquilo, alquenilo o alquinilo, pudiendo estar cada uno de ellos opcionalmente sustituido, y R_3 y R_4 son independientemente alquilo inferior o R_3 y R_4 se pueden considerar conjuntamente para formar un anillo heterocíclico opcionalmente sustituido. En algunas realizaciones, el lípido catiónico es XTC (2,2-dilinoleil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano). En general, el lípido de fórmula A anterior se puede preparar mediante los siguientes Esquemas de reacción 1 o 2, donde todos los sustituyente son como se

han definido anteriormente, a menos que se indique de otro modo.

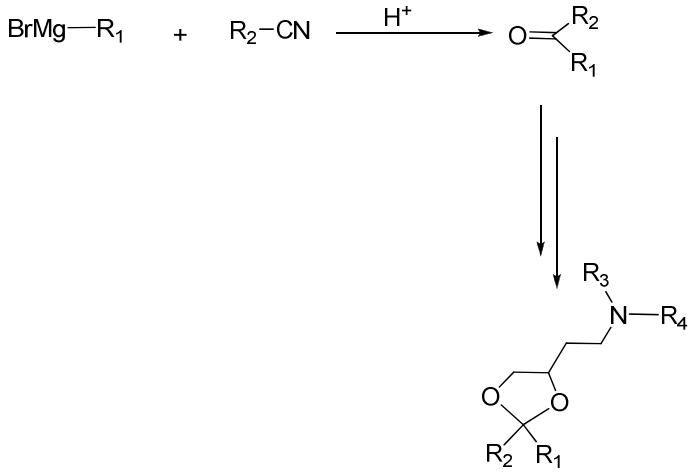
Esquema 1



El lípido A, donde R_1 y R_2 son independientemente alquilo, alquenilo o alquinilo, pudiendo estar cada uno de ellos opcionalmente sustituido, y R_3 y R_4 son independientemente alquilo inferior o R_3 y R_4 se pueden considerar conjuntamente para formar un anillo heterocíclico opcionalmente sustituido, se puede preparar de acuerdo con el Esquema 1. La cetona 1 y el bromuro 2 se pueden adquirir o preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica. La reacción de 1 y 2 proporciona el cetal 3. El tratamiento del cetal 3 con la amina 4 proporciona los lípidos de fórmula A. Los lípidos de fórmula A se pueden convertir en la correspondiente sal de amonio con una sal orgánica de fórmula 5, donde X es un

contraión seleccionado entre halógeno, hidróxido, fosfato, sulfato o similares.

Esquema 2



Como alternativa, la cetona 1 que actúa como material de partida se puede preparar de acuerdo con el Esquema 2. El reactivo de Grignard 6 y el cianuro 7 se pueden adquirir o preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica. La reacción de 6 y 7 proporciona la cetona 1. La conversión de la cetona 1 en los lípidos correspondientes de fórmula A se lleva a cabo como se ha descrito en el Esquema 1.

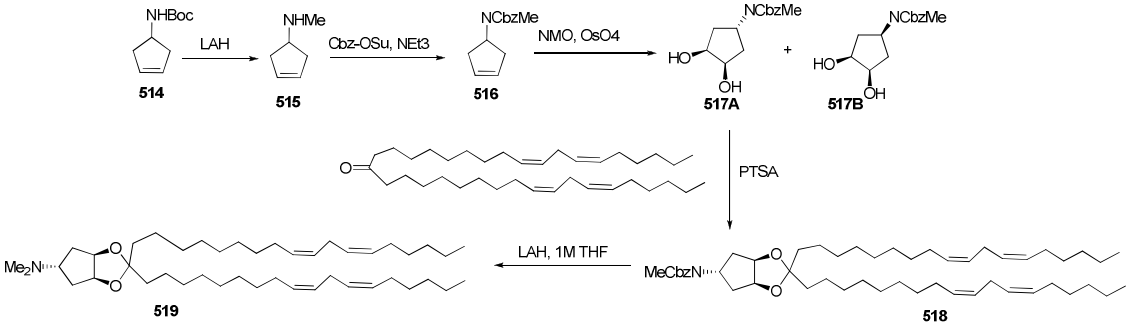
Síntesis de MC3

La preparación de DLin-M-C3-DMA (es decir, 4-(dimetilamino)butanoato de (6*Z*,9*Z*,28*Z*,31*Z*)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ilo) se llevó a cabo como se indica a continuación. Una solución de (6*Z*,9*Z*,28Z,31*Z*)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ol (0.53 g), clorhidrato del ácido 4-*N*,*N*-dimetilaminobutírico (0.51 g),

4-*N*,*N*-dimetilaminopiridina (0.61 g) y clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (0.53 g) en diclorometano (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La solución se lavó con ácido clorhídrico diluido y a continuación con bicarbonato de sodio acuoso diluido. Las fracciones orgánicas se secaron con sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se eliminó el disolvente en un rotavapor. El residuo se hizo pasar a través de una columna de gel de sílice (20 g) utilizando un gradiente de elución de un 1-5% de metanol/diclorometano. Las fracciones que contenían el producto purificado se combinaron y se eliminó el disolvente, para proporcionar un aceite incoloro (0.54 g).

Síntesis de ALNY-100

La síntesis del cetal 519 [ALNY-100] se llevó a cabo utilizando el siguiente esquema 3:



Síntesis de 515:

A una suspensión agitada de $LiAlH_4$ (3.74 g, 0.09852 mol) en 200 mL de THF anhidro en un matraz de fondo redondo de dos bocas (1 L), se añadió una solución de 514 (10 g,

0.04926 mol) en 70 mL de THF lentamente a 0 ºC en atmósfera de nitrógeno. Tras completar la adición, la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y a continuación se calentó a reflujo durante 4 h. La evolución de la reacción se monitorizó mediante TLC. Después de que se completara la reacción (mediante TLC), la mezcla se enfrió hasta 0 ºC y se desactivó añadiendo cuidadosamente una solución saturada de Na_2SO_4. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente y se separó por filtración. El residuo se lavó bien con THF. El filtrado y los lavados se mezclaron, se diluyeron con 400 mL de dioxano y 26 mL de HCl conc. y se agitaron durante 20 minutos a temperatura ambiente. Los componentes volátiles se eliminaron al vacío para proporcionar la sal clorhídrica de 515 como un sólido blanco. Rendimiento: 7.12 g. ^{1}H-RMN (DMSO, 400MHz): δ = 9.34 (ancho, 2H), 5.68 (s, 2H), 3.74 (m, 1H), 2.66-2.60 (m, 2H), 2.50-2.45 (m, 5H).

Síntesis de 516:

A una solución agitada del compuesto 515 en 100 mL de DCM anhidro en un matraz de fondo redondo de dos bocas de 250 mL, se añadió NEt_3 (37.2 mL, 0.2669 mol) y se enfrió hasta 0 ºC en atmósfera de nitrógeno. Después de una adición lenta de *N*-(benciloxicarboniloxi)succinimida (20 g, 0.08007 mol) en 50 mL de DCM anhidro, se permitió que la mezcla de reacción se calentara hasta temperatura ambiente.

Después de que se completara la reacción (2-3 h mediante TLC), la mezcla se lavó sucesivamente con una solución de HCl 1 N (1 x 100 mL) y una solución saturada de $NaHCO_3$ (1 x 50 mL). A continuación, la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se evaporó el disolvente para obtener un material crudo, el cual se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para obtener 516 como una masa pegajosa. Rendimiento: 11 g (89%). ^{1}H-RMN ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 7.36-7.27 (m, 5H), 5.69 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 4.96 (a, 1H) 2.74 (s, 3H), 2.60 (m, 2H), 2.30-2.25 (m, 2H). LC-MS [M+H] -232.3 (96.94%).

Síntesis de 517A y 517B:

El ciclopenteno 516 (5 g, 0.02164 mol) se disolvió en una solución de 220 mL de acetona y agua (10:1) en un matraz de fondo redondo de 500 mL de una boca y a esto se le añadió *N*-óxido de *N*-metilmorfolina (7.6 g, 0.06492 mol) y a continuación 4.2 mL de una solución al 7.6% de OsO_4 (0.275 g, 0.00108 mol) en *tert*-butanol a temperatura ambiente. Después de que se completara la reacción (~ 3 h), la mezcla se desactivó con la adición de Na_2SO_3 sólido y la mezcla resultante se agitó durante 1.5 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (300 mL) y se lavó con agua (2 x 100 mL), a continuación con una solución saturada de $NaHCO_3$ (1 x 50 mL), agua (1 x 30 mL) y finalmente con salmuera (1x 50 mL). La fase orgánica se

secó con Na_2SO_4 anhidro y se eliminó el disolvente al vacío. La purificación del material crudo mediante cromatografía en columna de gel de sílice proporcionó una mezcla de diastereómeros, los cuales se separaron mediante HPLC prep. Rendimiento: - 6 g de crudo

517A - Pico 1 (sólido blanco), 5.13 g (96%). ^{1}H-RMN (DMSO, 400 MHz): δ = 7.39-7.31 (m, 5H), 5.04 (s, 2H), 4.78-4.73 (m, 1H), 4.48-4.47 (d, 2H), 3.94-3.93 (m, 2H), 2.71 (s, 3H), 1.72- 1.67 (m, 4H). LC-MS - [M+H]-266.3, [M+NH4+]-283.5 presente, HPLC-97.86%. Estereoquímica confirmada mediante rayos X.

Síntesis de 518:

Utilizando un procedimiento análogo al descrito para la síntesis del compuesto 505, se obtuvo el compuesto 518 (1.2 g, 41%) como un aceite incoloro. ^{1}H-RMN ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 7.35-7.33 (m, 4H), 7.30-7.27 (m, 1H), 5.37-5.27 (m, 8H), 5.12 (s, 2H), 4.75 (m, 1H), 4.58-4.57 (m, 2H), 2.78-2.74 (m, 7H), 2.06-2.00 (m, 8H), 1.96-1.91 (m, 2H), 1.62 (m, 4H), 1.48 (m, 2H), 1.37-1.25 (m a, 36 H), 0.87 (m, 6H). HPLC-98.65%.

Procedimiento general para la síntesis del compuesto 519:

Una solución del compuesto 518 (1 eq) en hexano (15 mL) se añadió gota a gota a una solución enfriada con hielo de LAH en THF (1 M, 2 eq). Tras completar la adición, la

mezcla se calentó a 40 ºC durante 0.5 h y a continuación se enfrió de nuevo en un baño de hielo. La mezcla se hidrolizó cuidadosamente con Na_2SO_4 acuoso saturado, a continuación se filtró a través de celite y se redujo hasta obtener un aceite. La cromatografía en columna proporcionó 519 puro (1.3 g, 68%), que se obtuvo como un aceite incoloro. ^{13}C RMN = 130.2, 130.1 (x2), 127.9 (x3), 112.3, 79.3, 64.4, 44.7, 38.3, 35.4, 31.5, 29.9 (x2), 29.7, 29.6 (x2), 29.5 (x3), 29.3 (x2), 27.2 (x3), 25.6, 24.5, 23.3, 226, 14.1; MS por electronebulización (modo positivo): Peso molecular para $C_{44}H_{80}NO_2$ (M + H)+ Calc. 654.6, Experimental 654.6.

Las formulaciones preparadas mediante el método estándar o un método exento de extrusión se pueden caracterizar de maneras similares. Por ejemplo, las formulaciones se caracterizan normalmente mediante una inspección visual. Deberían ser soluciones translúcidas blanquecinas exentas de agregados o sedimento. El tamaño de partícula y la distribución de tamaños de partícula de las nanopartículas lipídicas se pueden medir mediante dispersión de la luz utilizando, por ejemplo, un instrumento Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern, EE. UU.). Las partículas deberían de tener un tamaño de aproximadamente 20-300 nm, tal como de 40-100 nm. La distribución de tamaños de partícula debería ser unimodal. La concentración total de ARNbc en la formulación, así como

también la fracción atrapada, se estima utilizando un ensayo de exclusión de tinte. Una muestra del ARNbc formulado se puede incubar con un tinte de unión a ARN, tal como Ribogreen (Molecular Probes), en presencia o ausencia de un surfactante que altere la formulación, p. ej., Triton-X100 al 0.5%. El ARNbc total de la formulación se puede determinar mediante la señal procedente de la muestra que contiene el surfactante, en relación con una curva patrón. La fracción atrapada se determina restando el contenido de ARNbc "libre" (que se mide mediante la señal en ausencia de surfactante) del contenido de ARNbc total. El porcentaje de ARNbc atrapado es normalmente > 85%. Para una formulación SNALP, el tamaño de partícula es de al menos 30 nm, al menos 40 nm, al menos 50 nm, al menos 60 nm, al menos 70 nm, al menos 80 nm, al menos 90 nm, al menos 100 nm, al menos 110 nm y al menos 120 nm. En el intervalo adecuado es normalmente de aproximadamente al menos 50 nm a aproximadamente al menos 110 nm, de aproximadamente al menos 60 nm a aproximadamente al menos 100 nm o de aproximadamente al menos 80 nm a aproximadamente al menos 90 nm.

Las composiciones y formulaciones para administración oral incluyen polvos o gránulos, micropartículas, nanopartículas, suspensiones o soluciones en agua o medios no acuosos, cápsulas, cápsulas de gel, sobres, comprimidos

o minicomprimidos. Puede ser deseable utilizar espesantes, agentes saborizantes, diluyentes, emulsionantes, adyuvantes dispersantes o aglutinantes. En algunas realizaciones, las formulaciones orales son aquellas en las que los ARNbc que se exponen en la invención se administran conjuntamente con uno o más agentes quelantes y surfactantes potenciadores de la penetración. Los surfactantes adecuados incluyen ácidos grasos y/o ésteres o sales de estos, ácidos biliares y/o sales de estos. Los ácidos/sales biliares adecuados incluyen ácido quenodesoxicólico (CDCA) y ácido ursodesoxiquenodesoxicólico (UDCA), ácido cólico, ácido deshidrocólico, ácido desoxicólico, ácido glucólico, ácido glicólico, ácido glicodesoxicólico, ácido taurocólico, ácido taurodesoxicólico, tauro-24,25-dihidrofusidato de sodio y glicodihidrofusidato de sodio. Los ácidos grasos adecuados incluyen ácido araquidónico, ácido undecanoico, ácido oleico, ácido láurico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido linolénico, dicaprato, tricaprato, monooleína, dilaurina, 1-monocaprato de glicerilo, 1-dodecilazacicloheptan-2-ona, una acilcarnitina, una acilcolina o un monoglicérido, un diglicérido o una sal farmacéuticamente aceptable de estos (p. ej., de sodio). En algunas realizaciones, se utilizan combinaciones de potenciadores de la penetración, por ejemplo, sales/ácidos

grasos combinados con sales/ácidos biliares. Una combinación ilustrativa es la sal sódica de ácido láurico, ácido cáprico y UDCA. Otros potenciadores de la penetración incluyen el éter polioxietilen-9-laurílico y el éter polioxietilen-20-cetílico. Los ARNbc que se exponen en la invención se pueden suministrar por vía oral, en forma granular, que incluye partículas secas pulverizadas, o complejado para formar micro- o nanopartículas. Los agentes complejantes de ARNbc incluyen poliaminoácidos; poliiminas; poliacrilatos; polialquilacrilatos, polioxetanos, polialquilcianoacrilatos; gelatinas cationizadas, albúminas, almidones, acrilatos, polietilenglicoles (PEG) y almidones; polialquilcianoacrilatos; poliiminas derivatizadas con DEAE, polulanos, celulosas y almidones. Los agentes complejantes adecuados incluyen quitosano, *N*-trimetilquitosano, poli-L-lisina, polihistidina, poliornitina, poliesperminas, protamina, polivinilpiridina, politiodietilaminometiletileno P(TDAE), poliaminoestireno (p. ej., p-amino), poli(metilcianoacrilato), poli(etilcianoacrilato), poli(butilcianoacrilato), poli(isobutilcianoacrilato), poli(isohexilcianoacrilato), DEAE-metacrilato, DEAE-hexilacrilato, DEAE-acrilamida, DEAE-alúmina y DEAE-dextrano, polimetilacrilato, polihexilacrilato, poli(ácido D,L-láctico), poli(ácido DL-láctico-co-glicólico (PLGA), alginato y polietilenglicol

(PEG). Se describen detalladamente formulaciones orales para ARNbc y su preparación en la Patente de EE. UU. 6.887.906, la Publicación de EE. UU. N.º 20030027780 y la Patente de EE. UU. N.º 6.747.014, cada una de las cuales se incorpora a la presente por referencia.

Las composiciones y formulaciones para administración parenteral, intraparenquimal (en el cerebro), intratecal, intraventricular o intrahepática pueden incluir soluciones acuosas estériles, las cuales también pueden contener tampones, diluyentes y otros aditivos adecuados tales como, sin carácter limitante, potenciadores de la penetración, compuestos portadores y otros excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, sin carácter limitante, soluciones, emulsiones y formulaciones que contienen liposomas. Estas composiciones se pueden generar a partir de varios componentes que incluyen, sin carácter limitante, líquidos preformados, sólidos autoemulsionantes y semisólidos autoemulsionantes.

Las formulaciones farmacéuticas que se exponen en la presente invención, las cuales se pueden presentar convenientemente en una forma farmacéutica unitaria, se pueden preparar de acuerdo con técnicas convencionales muy conocidas en la industria farmacéutica. Tales técnicas

incluyen el paso de asociar los principios activos con el o los portadores o el o los excipientes farmacéuticos. En general, las formulaciones se preparan asociando de forma uniforme e íntima los principios activos con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos o ambos y a continuación, cuando proceda, dando forma al producto.

Las composiciones que se exponen en la presente invención se pueden formular en cualquiera de las muchas formas farmacéuticas posibles tales como, sin carácter limitante, comprimidos, cápsulas, cápsulas de gel, jarabes líquidos, geles blandos, supositorios y enemas. Las composiciones también se pueden formular como suspensiones en medios acuosos, no acuosos o mixtos. Las suspensiones acuosas pueden contener además sustancias que incrementen la viscosidad de la suspensión, que incluyen, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol y/o dextrano. La suspensión también puede contener estabilizantes.

Formulaciones adicionales

Emulsiones

Las composiciones de la presente invención se pueden preparar y formular como emulsiones. Las emulsiones son normalmente sistemas heterogéneos de un líquido dispersado en otro en forma de gotículas con un diámetro normalmente superior a 0.1µm (remítase, p. ej., a *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*,

Allen, LV., Popovich NG. y Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8.ª ed.), Nueva York, NY; Idson, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 199; Rosoff, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., Volumen 1, pág. 245; Block en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 2, pág. 335; Higuchi *et al*., en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, pág. 301). Las emulsiones suelen ser sistemas bifásicos que comprenden dos fases líquidas inmiscibles mezcladas de forma íntima y dispersadas una en la otra. En general, las emulsiones pueden ser de la variedad agua en aceite (a/ac) o aceite en agua (ac/a). Cuando una fase acuosa se divide finalmente y se dispersa en forma de gotículas minúsculas en una masa de fase oleosa, la composición resultante se denomina emulsión de agua en aceite (a/ac). Como alternativa, cuando una fase oleosa se divide finalmente y se dispersa en forma de gotículas minúsculas en una masa de fase acuosa, la composición resultante se denomina emulsión de aceite en agua (ac/a). Las emulsiones pueden contener componentes adicionales además de las fases dispersadas y del fármaco activo, el

cual puede estar presente como una solución tanto en la fase acuosa, la fase oleosa o por sí mismo como una fase separada. Cuando proceda, en las emulsiones también puede haber excipientes farmacéuticos presentes tales como emulsionantes, estabilizantes, tintes y antioxidantes. Las emulsiones farmacéuticas también pueden ser emulsiones múltiples que comprendan más de dos fases tales como, por ejemplo, en el caso de emulsiones de aceite en agua en aceite (ac/a/ac) y de agua en aceite en agua (a/ac/a). Tales formulaciones complejas suelen proporcionar ciertas ventajas que las emulsiones binarias simples no proporcionan. Las emulsiones múltiples en las cuales gotículas de aceite individuales de una emulsión de ac/a encierran pequeñas gotículas de agua constituyen una emulsión de a/ac/a. De modo similar, un sistema de gotículas de aceite encerradas en glóbulos de agua estabilizados en una fase continua oleosa proporcionan una emulsión de ac/a/ac.

Las emulsiones se caracterizan por tener una estabilidad dinámica escasa o nula. A menudo, la fase dispersada o discontinua de la emulsión está bien dispersada en la fase externa o continua y se mantiene en esta forma a través de los medios de emulsionantes o la viscosidad de la formulación. Cualquiera de las fases de la emulsión puede ser un semisólido o un sólido, como es el

caso de las cremas y bases de ungüentos de tipo emulsión. Otros medios para estabilizar emulsiones implican el uso de emulsionantes que se pueden incorporar en cualquier fase de la emulsión. Los emulsionantes se pueden clasificar a grandes rasgos en cuatro categorías: surfactantes sintéticos, emulsionantes de origen natural, bases de absorción y sólidos finamente dispersados (remítase, p. ej., a *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG. y Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8.ª ed.), Nueva York, NY; Idson, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 199).

Los surfactantes sintéticos, también conocidos como agentes tensioactivos, se aplican de forma generalizada en la formulación de emulsiones y han sido objeto de artículos de revisión en la bibliografía (remítase, p. ej., a *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG. y Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8.ª ed.), Nueva York, NY; Rieger, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 285; Idson, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., 1988, volumen 1, pág. 199). Los

surfactantes son normalmente anfifílicos y comprenden una porción hidrófila y una hidrófoba. La proporción de la naturaleza hidrófila frente a la hidrófoba del surfactante se ha denominado equilibrio hidrófilo/lipófilo (HLB) y es una herramienta valiosa para clasificar y seleccionar surfactantes en la preparación de formulaciones. Los surfactantes se pueden clasificar en diferentes clases en función de la naturaleza del grupo hidrófilo: no iónicos, aniónicos, catiónicos y anfóteros (remítase, p. ej., a *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG. y Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8.ª ed.), Nueva York, NY; Rieger, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 285).

Los emulsionantes de origen natural utilizados en las formulaciones de emulsiones incluyen lanolina, cera de abejas, fosfátidos, lecitina y acacia. Las bases de absorción poseen propiedades hidrófilas, por ejemplo, pueden empaparse de agua para formar emulsiones de a/ac a la vez que conservan sus consistencias semisólidas, por ejemplo, lanolina anhidra y vaselina hidrófila. También se han utilizado sólidos finamente divididos como emulsionantes satisfactorios, especialmente combinados con surfactantes y en preparados viscosos. Estos incluyen

sólidos inorgánicos polares, tales como hidróxidos de metales pesados, arcillas que no se expanden tales como bentonita, atapulgita, hectorita, caolín, montmorillonita, silicato de aluminio coloidal y silicato de aluminio y magnesio coloidal, pigmentos y sólidos no polares tales como carbón o triestearato de glicerilo.

En las formulaciones de emulsiones también se incluye una gran variedad de materiales no emulsionantes, los cuales contribuyen a definir las propiedades de las emulsiones. Estos incluyen grasas, aceites, ceras, ácidos grasos, alcoholes grasos, ésteres grasos, humectantes, coloides hidrófilos, conservantes y antioxidantes (Block, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 335; Idson, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 199).

Los coloides o hidrocoloides hidrófilos incluyen gomas de origen natural y polímeros sintéticos tales como polisacáridos (por ejemplo, acacia, agar, ácido algínico, carragenano, goma guar, goma karaya y tragacanto), derivados de la celulosa (por ejemplo, carboximetilcelulosa y carboxipropilcelulosa) y polímeros sintéticos (por ejemplo, carbómeros, éteres de celulosa y polímeros de carboxivinilo). Estos se dispersan o expanden en agua para

formar soluciones coloidales que estabilizan las emulsiones formando películas interfaciales resistentes alrededor de las gotículas de la fase dispersadas e incrementando la viscosidad de la fase externa.

Debido a que las emulsiones suelen contener una serie de ingredientes, tales como carbohidratos, proteínas, esteroles y fosfátidos, que pueden propiciar fácilmente el crecimiento de microbios, estas formulaciones suelen incorporar conservantes. Los conservantes utilizados habitualmente que se incluyen en las formulaciones de emulsiones incluyen parabeno metílico, parabeno propílico, sales de amonio cuaternario, cloruro de benzalconio, ésteres del ácido *p*-hidroxibenzoico y ácido bórico. Habitualmente también se añaden antioxidantes a las formulaciones de emulsiones para evitar el deterioro de la formulación. Los antioxidantes utilizados pueden ser atrapadores de radicales libres tales como tocoferoles, galatos de alquilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado o agentes reductores tales como ácido ascórbico y metabisulfito de sodio, y singergistas antioxidantes tales como ácido cítrico, ácido tartárico y lecitina.

La aplicación de las formulaciones de emulsiones por vía dermatológica, oral y parenteral y los métodos para su elaboración han sido objeto de artículos de revisión en la bibliografía (remítase, p. ej., a *Ansel's Pharmaceutical*

Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG. y Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8.ª ed.), Nueva York, NY; Idson, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 199). Las formulaciones de emulsiones para un suministro oral han sido utilizadas de forma generalizada debido a que su formulación resulta sencilla, así como también debido a su eficacia desde el punto de vista de la absorción y biodisponibilidad (remítase, p. ej., a *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG. y Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8.ª ed.), Nueva York, NY; Rosoff, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 245; Idson, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 199). Los laxantes con una base de aceite mineral, las vitaminas solubles en aceites y los preparados nutritivos ricos en grasas se encuentran entre los materiales que se han administrado habitualmente por vía oral como emulsiones de ac/a.

En una realización de la presente invención, las composiciones de ARNi y los ácidos nucleicos se formulan como microemulsiones. Una microemulsión se puede definir

como un sistema de agua, aceite y un material anfífilo que es una solución líquida termodinámicamente estable y ópticamente isotrópica estable (remítase, p. ej., a *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG. y Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8.ª ed.), Nueva York, NY; Rosoff, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 245). Normalmente, las microemulsiones son sistemas que se preparan dispersando en primer lugar un aceite en una solución acuosa de surfactante y a continuación añadiendo una cantidad suficiente de un cuarto componente, generalmente un alcohol con una longitud de cadena intermedia para formar un sistema transparente. Por consiguiente, las microemulsiones también se han descrito como dispersiones termodinámicamente estables e isotrópicamente transparentes de dos líquidos inmiscibles que se estabilizan mediante películas interfaciales de moléculas tensioactivas (Leung y Shah, en: *Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems*, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, Nueva York, páginas 185-215). Las microemulsiones se preparan normalmente mediante una combinación de tres a cinco componentes que incluyen aceite, agua, surfactante, cosurfactante y electrolito. El hecho de que la microemulsión sea del tipo agua en aceite

(a/ac) o aceite en agua (ac/a) depende de las propiedades del aceite y el surfactante utilizados y de la estructura y la geometría del empaquetamiento de las cabezas polares y las colas hidrocarbonadas de las moléculas de surfactante (Schott, en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, pág. 271).

La estrategia fenomenológica que utiliza diagramas de fase se ha estudiado exhaustivamente y ha proporcionado un conocimiento comprensivo, para el experto en la técnica, sobre cómo formular las microemulsiones (remítase, p. ej., a *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG. y Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8.ª ed.), Nueva York, NY; Rosoff, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 245; Block, en *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger y Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., volumen 1, pág. 335). En comparación con las emulsiones convencionales, las microemulsiones ofrecen la ventaja de que solubilizan fármacos insolubles en agua en una formulación de partículas termodinámicamente estables que se forman espontáneamente.

Los surfactantes utilizados en la preparación de microemulsiones incluyen, sin carácter limitante,

surfactantes iónicos, surfactantes no iónicos, Brij 96, éteres oleílicos de polioxietileno, ésteres de poliglicerol y ácidos grasos, monolaurato de tetraglicerol (ML310), monooleato de tetraglicerol (MO310), monooleato de hexaglicerol (PO310), pentaoleato de hexaglicerol (PO500), monocaprato de decaglicerol (MCA750), monooleato de decaglicerol (MO750), sequioleato de decaglicerol (SO750), decaoleato de decaglicerol (DAO750), solos o combinados con cosurfactantes. El cosurfactante, normalmente un alcohol de cadena corta tal como etanol, 1-propanol y 1-butanol, sirve para incrementar la fluidez interfacial penetrando en la película surfactante y consecuentemente creando una película desordenada debido al espacio hueco generado entre las moléculas de surfactante. A pesar de ello, las microemulsiones se pueden preparar sin el uso de cosurfactantes y en la técnica se conocen sistemas de microemulsiones autoemulsionantes exentos de alcoholes. Normalmente, la fase acuosa es, sin carácter limitante, agua, una solución acuosa del fármaco, glicerol, PEG300, PEG400, poligliceroles, propilenglicoles y derivados del etilenglicol. La fase oleosa puede incluir, sin carácter limitante, materiales tales como Captex 300, Captex 355, Capmul MCM, ésteres de ácidos grasos, mono-, di- y triglicéridos de cadena media (C8-C12), ésteres de ácidos grasos glicerílicos polioxietilados, alcoholes grasos,

glicéridos poliglicolixados, glicéridos C8-C10 poliglicolizados saturados, aceites vegetales y aceite de silicona.

Las microemulsiones tienen un interés particular desde el punto de vista de la solubilización de fármacos y la absorción mejorada de fármacos. Se ha postulado que las microemulsiones basadas en lípidos (tanto de ac/a como de a/ac) potencian la biodisponibilidad oral de los fármacos, incluidos los péptidos (remítase, p. ej., a las Patentes de EE. UU. N.os 6.191.105, 7.063.860, 7.070.802, 7.157.099; Constantinides *et al.*, *Pharmaceutical Research*, 1994, 11, 1385-1390; Ritschel, *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 1993, 13, 205). Las microemulsiones ofrecen las ventajas de una solubilización mejorada del fármaco, una protección del fármaco frente a la hidrólisis enzimática, una posible mejora de la absorción del fármaco debido a alteraciones inducidas por el surfactante en la fluidez y permeabilidad de la membrana, la sencillez de su preparación, la sencillez de su administración oral en comparación con las formas farmacéuticas sólidas, una potencia clínica mejorada y una menor toxicidad (remítase, p. ej., a las Patentes de EE. UU. N.os 6.191.105, 7.063.860, 7.070.802, 7.157.099, Constantinides *et al.*, *Pharmaceutical Research*, 1994, 11, 1385; Ho *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 1996, 85, 138-143). A menudo las microemulsiones se pueden formar espontáneamente

cuando se combinan sus componentes a temperatura ambiente. Esto puede resultar particularmente conveniente cuando se formulan fármacos, péptidos o ARNi termolábiles. Las microemulsiones también han resultado ser eficaces en el suministro transdérmico de componentes activos en aplicaciones tanto cosméticas como farmacéuticas. Cabe esperar que las formulaciones y composiciones de microemulsiones de la presente invención propicien un incremento de la absorción sistémica de los ARNi y los ácidos nucleicos a partir del aparato gastrointestinal, así como también que mejoren la captación celular local de los ARNi y los ácidos nucleicos.

Las microemulsiones de la presente invención también pueden contener componentes y aditivos adicionales tales como monoestearato de sorbitán (malla 3), labrasol y potenciadores de la penetración para mejorar las propiedades de la formulación y para mejorar la absorción de los ARNi y los ácidos nucleicos de la presente invención. Los potenciadores de la penetración utilizados en las microemulsiones de la presente invención se pueden clasificar como pertenecientes a una de las cinco categorías generales siguientes: surfactantes, ácidos grasos, sales biliares, agentes quelantes y agentes no surfactantes ni quelantes (Lee *et al*., *Critical Reviews in*

Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, pág. 92). Cada una de estas clases ha sido expuesta anteriormente.

Potenciadores de la penetración

En una realización, la presente invención emplea varios potenciadores de la penetración para ejercer un suministro eficaz de los ácidos nucleicos, particularmente los ARNi, en la piel de animales. La mayoría de los fármacos están presentes en solución tanto en forma ionizada como no ionizada. Sin embargo, normalmente solo los fármacos lipófilos o solubles en lípidos atraviesan fácilmente las membranas celulares. Se ha descubierto que incluso los fármacos no lipófilos pueden atravesar las membranas celulares si la membrana que se ha de atravesar se trata con un potenciador de la penetración. Además de propiciar la difusión de los fármacos no lipófilos a través de las membranas celulares, los potenciadores de la penetración también potencian la permeabilidad de los fármacos lipófilos.

Los potenciadores de la penetración se pueden clasificar como pertenecientes a una de entre cinco categorías generales, es decir, surfactantes, ácidos grasos, sales biliares, agentes quelantes y agentes no surfactantes ni quelantes (remítase, p. ej., a Malmsten, M. *Surfactants and polymers in drug delivery*, Informa Health Care, Nueva York, NY, 2002; Lee *et al*., *Critical Reviews in*

Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, pág. 92). Cada una de las clases mencionadas anteriormente de potenciadores de la penetración se describen a continuación con más detalle.

Surfactantes: En relación con la presente invención, los surfactantes (o "agentes tensioactivos") son entidades químicas que, cuando se disuelven en una solución acuosa, reducen la tensión superficial de la solución o la tensión interfacial entre la solución acuosa y otro líquido, con el resultado de que se potencia la absorción de los ARNi a través de la mucosa. Además de las sales biliares y los ácidos grasos, estos potenciadores de la penetración incluyen, por ejemplo, laurilsulfato de sodio, éter polioxietilen-9-laurílico y éter polioxietilen-20-cetílico (remítase, p. ej., a Malmsten, M. *Surfactants and polymers in drug delivery*, Informa Health Care, Nueva York, NY, 2002; Lee *et al.*, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, pág. 92) y emulsiones perfluoroquímicas tales como FC-43. Takahashi *et al.*, *J. Pharm. Pharmacol.*, 1988, 40, 252).

Ácidos grasos: Los diferentes ácidos grasos y sus derivados que actúan como potenciadores de la penetración incluyen, por ejemplo, ácido oleico, ácido láurico, ácido cáprico (ácido *n*-decanoico), ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido linolénico, dicaprato, tricaprato, monooleína (1-

monooleoil-rac-glicerol), dilaurina, ácido caprílico, ácido araquidónico, 1-monocaprato de glicerol, 1-dodecilazacicloheptan-2-ona, acilcarnitinas, acilcolinas, sus ésteres de alquilo C_{1-20} (p. ej., metilo, isopropilo y *t*-butilo), y mono- y diglicéridos de estos (es decir, oleato, laurato, caprato, miristato, palmitato, estearato, linoleato, etc.) (remítase, p. ej., a Touitou, E. *et al*. *Enhancement in Drug Delivery*, CRC Press, Danvers, MA, 2006; Lee *et al*., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, pág. 92; Muranishi, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1990, 7, 1-33; El Hariri *et al*., *J. Pharm. Pharmacol.*, 1992, 44, 651-654).

Sales biliares: La función fisiológica de la bilis incluye facilitar la dispersión y la absorción de lípidos y de vitaminas solubles en grasas (remítase, p. ej., a Malmsten, M. *Surfactants and polymers in drug delivery*, Informa Health Care, Nueva York, NY, 2002; Brunton, Capítulo 38 en: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9.ª Ed., Hardman *et al*. Eds., McGraw-Hill, Nueva York, 1996, págs. 934-935). Varias sales biliares naturales, y sus derivados sintéticos, actúan como potenciadores de la penetración. Por lo tanto, la expresión "sales biliares" incluye cualquiera de los componentes de origen natural de la bilis, así como también cualquiera de sus derivados sintéticos. Las sales biliares adecuadas

incluyen, por ejemplo, ácido cólico (o su sal sódica farmacéuticamente aceptable, el colato de sodio), ácido deshidrocólico (deshidrocolato de sodio), ácido desoxicólico (desoxicolato de sodio), ácido glucólico (glucolato de sodio), ácido glicólico (glicolato de sodio), ácido glicodesoxicólico (glicodesoxicolato de sodio), ácido taurocólico (taurocolato de sodio), ácido taurodesoxicólico (taurodesoxicolato de sodio), ácido quenodesoxicólico (quenodesoxicolato de sodio), ácido ursodesoxicólico (UDCA), tauro-24,25-dihidrofusidato de sodio (STDHF), glicodihidrofusidato de sodio y éter polioxietilen-9-laurílico (POE) (remítase, p. ej., a Malmsten, M. *Surfactants and polymers in drug delivery*, Informa Health Care, Nueva York, NY, 2002; Lee *et al.*, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, página 92; Swinyard, Capítulo 39 en: *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18.ª Ed., Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990, páginas 782-783; Muranishi, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1990, 7, 1-33; Yamamoto *et al.*, *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1992, 263, 25; Yamashita *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 1990, 79, 579-583).

Agentes quelantes: Los agentes quelantes, cuando se utilizan en relación con la presente invención, se pueden definir como compuestos que eliminan iones metálicos de la solución mediante la formación de complejos con ellos, con

el resultado de que se potencia la absorción de los ARNi a través de la mucosa. En lo que respecta a su uso como potenciadores de la penetración en la presente invención, los agentes quelantes presentan la ventaja añadida de que también sirven como inhibidores de la DNasa, ya que la mayoría de ADN-nucleasas caracterizadas requieren un ion metálico bivalente para la catálisis y, por lo tanto, son inhibidas por los agentes quelantes (Jarrett, *J. Chromatogr.*, 1993, 618, 315-339). Los agentes quelantes adecuados incluyen, sin carácter limitante, etilendiamintetraacetato de sodio (EDTA), ácido cítrico, salicilatos (p. ej., salicilato de sodio, 5-metoxisalicilato y homovanilato), derivados *N*-acílicos del colágeno, derivados de tipo lauret-9 y *N*-aminoacilo de β-dicetonas (enaminas)(remítase, p. ej., a Katdare, A. *et al.*, *Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery*, CRC Press, Danvers, MA, 2006; Lee *et al.*, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, página 92; Muranishi, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1990, 7, 1-33; Buur *et al.*, *J. Control Rel.*, 1990, 14, 43-51).

Agentes no surfactantes ni quelantes: Los compuestos potenciadores de la penetración no surfactantes ni quelantes, tal como se utilizan en la presente, se pueden definir como compuestos que presentan una actividad

insignificante como agentes quelantes o como surfactantes pero que, a pesar de ello, potencian la absorción de los ARNi a través de la mucosa alimentaria (remítase, p. ej., a Muranishi, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1990, 7, 1-33). Esta clase de potenciadores de la penetración incluyen, por ejemplo, ureas cíclicas insaturadas, derivados de tipo 1-alquil- y 1-alquenilazacicloalcanona (Lee *et al.*, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, page 92) y agentes antiinflamatorios no esteroideos tales como diclofenac sódico, indometacina y fenilbutazona (Yamashita *et al.*, *J. Pharm. Pharmacol.*, 1987, 39, 621-626).

También se pueden añadir agentes que potencian la captación de ARNi a nivel celular a las composiciones farmacéuticas u otras composiciones de la invención. Por ejemplo, también existe constancia de que lípidos catiónicos, tales como la lipofectina (Junichi *et al*, Pat. de EE. UU. N.º 5.705.188), derivados catiónicos del glicerol y moléculas policatiónicas tales como la polilisina (Lollo *et al.*, Solicitud de PCT WO 97/30731) potencian la captación celular de ARNbc. Los ejemplos de reactivos de transfección que se pueden adquirir de proveedores comerciales incluyen, por ejemplo, Lipofectamine™ (Invitrogen; Carlsbad, CA), Lipofectamine 2000™ (Invitrogen; Carlsbad, CA), 293fectin™ (Invitrogen;

Carlsbad, CA), Cellfectin™ (Invitrogen; Carlsbad, CA), DMRIE-C™ (Invitrogen; Carlsbad, CA), FreeStyle™ MAX (Invitrogen; Carlsbad, CA), Lipofectamine™ 2000 CD (Invitrogen; Carlsbad, CA), Lipofectamine™ (Invitrogen; Carlsbad, CA), RNAiMAX (Invitrogen; Carlsbad, CA), Oligofectamine™ (Invitrogen; Carlsbad, CA), Optifect™ (Invitrogen; Carlsbad, CA), el reactivo de transfección X-tremeGENE Q2 (Roche; Grenzacherstrasse, Suiza), el reactivo de transfección liposomal DOTAP (Grenzacherstrasse, Suiza), el reactivo de transfección liposomal DOSPER (Grenzacherstrasse, Suiza) o Fugene (Grenzacherstrasse, Suiza), el reactivo Transfectam® (Promega; Madison, WI), el reactivo de transfección TransFast™ (Promega; Madison, WI), el reactivo Tfx™-20 (Promega; Madison, WI), el reactivo Tfx™-50 (Promega; Madison, WI), DreamFect™ (OZ Biosciences; Marsella, Francia), EcoTransfect (OZ Biosciences; Marsella, Francia), el reactivo de transfección TransPassª D1 (New England Biolabs; Ipswich, MA, EE. UU.), LyoVec™/LipoGen™ (Invivogen; San Diego, CA, EE. UU.), el reactivo de transfección PerFectin (Genlantis; San Diego, CA, EE. UU.), el reactivo de transfección NeuroPORTER (Genlantis; San Diego, CA, EE. UU.), el reactivo de transfección GenePORTER (Genlantis; San Diego, CA, EE. UU.), el reactivo de transfección GenePORTER 2 (Genlantis; San Diego, CA, EE. UU.), el reactivo de transfección Cytofectin (Genlantis;

San Diego, CA, EE. UU.), el reactivo de transfección BaculoPORTER (Genlantis; San Diego, CA, EE. UU.), el reactivo de transfección TroganPORTER™ (Genlantis; San Diego, CA, EE. UU.), RiboFect (Bioline; Taunton, MA, EE. UU.), PlasFect (Bioline; Taunton, MA, EE. UU.), UniFECTOR (B-Bridge International; Mountain View, CA, EE. UU.), SureFECTOR (B-Bridge International; Mountain View, CA, EE. UU.) o HiFect™ (B-Bridge International, Mountain View, CA, EE. UU.), entre otros.

Se pueden utilizar otros reactivos para potenciar la penetración de los ácidos nucleicos administrados, que incluyen glicoles tales como etilenglicol y propilenglicol, pirroles tales como 2-pirrol, azonas y terpenos tales como limoneno y mentona.

Portadores

Ciertas composiciones de la presente invención también incorporan compuestos portadores en la formulación. La expresión "compuesto portador" o "portador", tal como se utiliza en la presente, se puede referir a un ácido nucleico o un análogo de este, que es inerte (es decir, no posee actividad biológica de por sí) pero que es reconocido como un ácido nucleico por procesos *in vivo* que reducen la biodisponibilidad de un ácido nucleico con actividad biológica, por ejemplo, degradando el ácido nucleico biológicamente activo o propiciando su eliminación de la

circulación. La administración conjunta de un ácido nucleico y un compuesto portador, normalmente con un exceso de la última sustancia, puede dar como resultado una reducción sustancial de la cantidad de ácido nucleico que se recupera en el hígado, el riñón u otros depósitos extracirculatorios, probablemente debido a la competición entre el compuesto portador y el ácido nucleico por un receptor común. Por ejemplo, la recuperación de un ARNbc de tipo parcialmente fosforotioato en tejido hepático se puede reducir cuando se administra conjuntamente con ácido poliinosínico, sulfato de dextrano, ácido policitídico o ácido 4-acetamido-4'isotiocianoestilben-2,2'-disulfónico (Miyao *et al*., *DsRNA Res. Dev.*, 1995, 5, 115-121; Takakura *et al*., *DsRNA & Nucl. Acid Drug Dev.*, 1996, 6, 177-183).

Excipientes

A diferencia de un compuesto portador, un "excipiente" o "portador farmacéutico" es un agente de suspensión o un disolvente farmacéuticamente aceptable o cualquier otro vehículo farmacológicamente inerte para suministrar uno o más ácidos nucleicos a un animal. El excipiente puede ser líquido o sólido y se selecciona, teniendo en cuenta la vía de administración planeada, de modo que proporcione la masa, consistencia, etc. deseadas, cuando se combina con un ácido nucleico y los demás componentes de una composición farmacéutica determinada. Los portadores farmacéuticos

habituales incluyen, sin carácter limitante, agentes aglutinantes (p. ej., almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa, etc.); rellenos (p. ej., lactosa u otros azúcares, celulosa microcristalina, pectina, gelatina, sulfato de calcio, etilcelulosa, poliacrilatos o hidrogenofosfato de calcio, etc.); lubricantes (p. ej., estearato de magnesio, talco, sílice, dióxido de sílice coloidal, ácido esteárico, estearatos metálicos, aceites vegetales hidrogenados, almidón de maíz, polietilenglicoles, benzoato de sodio, acetato de sodio, etc.); desintegrantes (p. ej., almidón, glicolato de almidón sódico, etc.) y agentes humectantes (p. ej., laurilsulfato de sodio, etc.).

Para formular las composiciones de la presente invención, también se pueden utilizar excipientes orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables adecuados para la administración no parenteral que no reaccionen de forma perjudicial con los ácidos nucleicos. Los portadores farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, sin carácter limitante, agua, soluciones salinas, alcoholes, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidona y similares.

Las formulaciones para la administración tópica de los ácidos nucleicos pueden incluir soluciones acuosas

estériles y no estériles, soluciones no acuosas en disolventes habituales tales como alcoholes, o soluciones de los ácidos nucleicos en bases oleosas sólidas o líquidas. Las soluciones también pueden contener tampones, diluyentes u otros aditivos adecuados. Se pueden utilizar excipientes orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables adecuados para la administración no parenteral que no reaccionen de forma perjudicial con los ácidos nucleicos.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, sin carácter limitante, agua, soluciones salinas, alcohol, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidona y similares.

Otros componentes

Las composiciones de la presente invención pueden contener adicionalmente otros componentes adjuntos que se encuentran convencionalmente en las composiciones farmacéuticas, con sus niveles de uso establecidos en la técnica. De este modo, las composiciones pueden contener, por ejemplo, materiales farmacéuticamente activos compatibles adicionales tales como, por ejemplo, agentes antipruríticos, astringentes, anestésicos locales o antiinflamatorios, o pueden contener materiales adicionales

útiles a la hora de formular físicamente varias formas farmacéuticas de las composiciones de la presente invención, tales como tintes, agentes saborizantes, conservantes, antioxidantes, opacificantes, agentes espesantes y estabilizantes. Sin embargo, tales materiales, cuando se añaden, no deberían de interferir indebidamente con las actividades biológicas de los componentes de las composiciones de la presente invención. Las formulaciones se pueden esterilizar y, cuando proceda, mezclar con agentes auxiliares, p. ej., lubricantes, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, sales para ejercer un efecto sobre la presión osmótica, tampones, colorantes, saborizantes y/o sustancias aromáticas y similares, los cuales no interaccionan de forma perjudicial con el o los ácidos nucleicos de la formulación.

Las suspensiones acuosas pueden contener sustancias que incrementen la viscosidad de la suspensión, que incluyen, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol y/o dextrano. La suspensión también puede contener estabilizantes.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas que se exponen en la invención incluyen (a) uno o más compuestos de ARNi y (b) uno o más agentes biológicos que actúan mediante un mecanismo que no es de iARN. Los ejemplos de tales agentes biológicos incluyen

agentes que interfieren con una interacción de LECT2 y al menos una pareja de unión a LECT2.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de tales compuestos se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación, p. ej., para determinar la DL_{50} (la dosis letal para un 50% de la población) y la DE_{50} (la dosis terapéuticamente eficaz en un 50% de la población). La proporción de dosis entre los efectos tóxico y terapéutico es el índice terapéutico y se puede expresar como la proporción de DL_{50}/DE_{50}. Es habitual encontrar compuestos que exhiben índices terapéuticos elevados.

Los datos obtenidos a partir de ensayos de cultivos celulares y estudios con animales se pueden utilizar para formular una serie de dosis para uso en humanos. La dosis de las composiciones que se exponen en la invención se encuentra generalmente dentro de un intervalo de concentraciones en circulación que incluye la DE_{50} con una toxicidad baja o nula. La dosis puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma farmacéutica empleada y la vía de administración utilizada. Para cualquier compuesto utilizado en los métodos que se exponen en la invención, la dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Se puede formular una dosis en modelos con

animales para conseguir un intervalo de concentraciones en circulación en plasma del compuesto o, cuando proceda, del producto polipeptídico de una secuencia diana (p. ej., para conseguir una reducción de la concentración del polipéptido) que incluya la CI_{50} (es decir, la concentración del compuesto de prueba que proporciona una inhibición de los síntomas que es la mitad de la máxima) según se determina en un cultivo celular. Tal información se puede utilizar para determinar con más exactitud las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma se pueden medir, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de alta resolución.

Además de su administración, según se ha discutido anteriormente, los ARNi que se exponen en la invención se pueden administrar combinados con otros agentes conocidos eficaces en el tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con la expresión de LECT2. En cualquier caso, el médico que lo administre puede ajustar la cantidad y los intervalos de tiempo para la administración del ARNi en función de los resultados observados utilizando medidas estándar de la eficacia que se conocen en la técnica o se describen en la presente.

Métodos para tratar trastornos relacionados con la expresión de un gen LECT2

La presente descripción se refiere al uso de un ARNi que tiene LECT2 como diana para inhibir la expresión de LECT2 y/o tratar una enfermedad, trastorno o proceso patológico que se relaciona con la expresión de LECT2.

En un aspecto, se proporciona un método de tratamiento de un trastorno relacionado con la expresión de LECT2, comprendiendo el método administrar un ARNi (p. ej., un ARNbc) descrito en la presente a un sujeto que lo necesita. En algunas realizaciones, el ARNi inhibe (disminuye) la expresión de LECT2. En algunas realizaciones, el ARNi incrementa la expresión de LECT2.

La expresión "un trastorno relacionado con la expresión de LECT2", un "trastorno relacionado con la expresión de LECT2", un "proceso patológico relacionado con la expresión de LECT2" o similares, tal como se utilizan en la presente, incluyen cualquier afección, trastorno o enfermedad en la cual se altera (p. ej., se disminuye o incrementa con respecto a un nivel normal) la expresión de LECT2. En algunas realizaciones, se disminuye la expresión de LECT2. En algunas realizaciones, se incrementa la expresión de LECT2. En realizaciones, la disminución o incremento en la expresión de LECT2 es detectable en la sangre (p. ej., en el plasma) del sujeto. En realizaciones, la disminución o incremento en la expresión de LECT2 es detectable en una muestra de tejido del sujeto (p. ej., en

una muestra de riñón o en una muestra de hígado). La disminución o incremento se puede evaluar con respecto al nivel observado en el mismo individuo antes del desarrollo del trastorno, o con respecto a otro individuo o individuos que no tienen el trastorno. La disminución o incremento puede estar limitada a un órgano, tejido, o región particular del cuerpo (p. ej., el riñón o el hígado).

Un "sujeto", tal como se utiliza en la presente, que se ha de tratar de acuerdo con los métodos descritos en la presente incluye un ser humano o un animal no humano, p. ej., un mamífero. El mamífero puede ser, por ejemplo, un roedor (p. ej., una rata o un ratón) o un primate (p. ej., un mono). En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Un “sujeto que lo necesite” incluye un sujeto que tiene, que se sospecha que tiene, o que está en riesgo de desarrollar un trastorno relacionado con la expresión de LECT2. En algunas realizaciones, el sujeto tiene, que se sospecha que tiene, un trastorno relacionado con la expresión de LECT2. En algunas realizaciones, el sujeto está en riesgo de desarrollar un trastorno relacionado con la expresión de LECT2.

En algunas realizaciones, el sujeto es un animal que sirve como un modelo para un trastorno relacionado con la expresión de LECT2, p. ej., una amiloidosis de LECT2.

Amiloidosis de LECT2

En realizaciones, el trastorno relacionado con la expresión de LECT2 es una amiloidosis, *p. ej.,* una amiloidosis de LECT2. La amiloidosis de LECT2 se ha descrito en varios estudios clínicos. Remítase a, p. ej., Benson, M.D. *et al* (2008) *Kidney International*, 74: 218-222; Murphy, C. L. *et al.* (2010) *Am J Kidney Dis*, 56(6):1100-1107; Larsen, C.P. *et al.* (2010) *Kidney Int.*, 77(9):816-819; Holanda, D.G. *et al.* (2011) *Nephrol. Dial. Transplant.*, 26 (1): 373-376; y Sethi, S. *et al.* (2012) *Kidney International* 82, 226–234 (en lo sucesivo en la presente Sethi *et al.*).

Los rasgos clínicos y patológicos de la amiloidosis de LECT2 imitan aquellos de la amiloidosis de cadena ligera de amiloide (AL). Estos síntomas incluyen, p. ej., síntomas de nefropatía e insuficiencia renal, p. ej., retención de fluidos, hinchamiento, y falta de aire. La amiloidosis puede afectar al corazón, al sistema nervioso periférico, al tubo digestivo, a la sangre, a los pulmones y a la piel. Las complicaciones cardíacas incluyen, p. ej., insuficiencia cardíaca y latido cardíaco irregular. Otros síntomas incluyen, p. ej., apoplejía, trastornos gastrointestinales, hígado agrandado, función del bazo disminuida, función disminuida de la glándula suprarrenal y

otras glándulas endocrinas, cambios de color o crecimientos de la piel, problemas pulmonares, problemas de hemorragia y de contusiones, fatiga y pérdida de peso. En realizaciones, los métodos descritos en la presente están asociados con la mejora en uno o más síntomas descritos en la presente.

Los métodos para diagnosticar amiloidosis, p. ej., amiloidosis de LECT2, se describen, p. ej., en Leung, N. *et al.* (2010) *Blood*, publicado en línea el 4 de septiembre de 2012; DOI 10.1182/blood-2012-03-413682; Shiller, S.M. *et al.* (2011). Laboratory Methods for the Diagnosis of Hereditary Amyloidoses, Amyloidosis - Mechanisms and Prospects for Therapy, Dr. Svetlana Sarantseva (Ed.), ISBN: 978-953-307-253-1; Sethi *et al.* (remítase a más arriba) y en la Publicación de Solicitud de Patente EE.UU. N.º 20100323381.

En base a los resultados proporcionados por Sethi *et al.*, la amiloidosis de LECT2 da cuenta de un porcentaje significativo de casos de amiloidosis renal. Remítase a la Tabla 1 de Sethi *et al.*, que muestra que se determinó que 26 de 127 casos de amiloidosis renal estudiados por microdisección con láser y espectrometría de masas de muestras de biopsia renal y/o de nefrectomía son del tipo de amiloide de LECT2. Sethi *et al.* informan además que la proteína apolipoproteína E y el componente de amiloide

sérico P (SAP) también estuvieron presentes en todos los casos de amiloidosis de LECT2.

En realizaciones, la amiloidosis, p. ej., la amiloidosis de LECT2, implica deposición sistémica de amiloide. En realizaciones, la amiloidosis, p. ej., la amiloidosis de LECT2, está localizada total o predominantemente en un tejido u órgano particular (p. ej., en el riñón o hígado).

En realizaciones, la amiloidosis, p. ej., la amiloidosis de LECT2, es hereditaria.

En realizaciones, una amiloidosis de LECT2 se diagnostica usando un análisis de una muestra procedente del sujeto (p. ej., una muestra de biopsia). En realizaciones, la muestra de biopsia es una biopsia renal. En realizaciones, la muestra es una muestra de nefrectomía. En realizaciones, la muestra procede de una biopsia hepática o de otro tejido hepático resecado. En realizaciones, la muestra se analiza usando métodos seleccionados de uno o más de inmunohistoquímica, inmunoensayo de LECT2, microscopía electrónica, microdisección con láser, y espectrometría de masas. En realizaciones, la amiloidosis de LECT2 se diagnostica usando microdisección por láser y espectrometría de masas.

En realizaciones, la amiloidosis, p. ej., la amiloidosis de LECT2, afecta al riñón, p. ej., implica

deposición de amiloide en el riñón. En realizaciones, la función renal está comprometida como resultado de la amiloidosis. En realizaciones, el sujeto sufre de uno o más de retención de fluidos, hinchamiento, y falta de aire. En realizaciones, el sujeto tiene síndrome nefrótico. En realizaciones, el sujeto sufre proteinuria. En realizaciones, el sujeto tiene insuficiencia renal.

En realizaciones, la amiloidosis, p. ej., la amiloidosis de LECT2, afecta al hígado, p. ej., implica deposición de amiloide en el hígado. En realizaciones, la función hepática está comprometida como resultado de la amiloidosis. En realizaciones, el sujeto tiene hepatitis, p. ej., hepatitis crónica. En realizaciones, la hepatitis es una hepatitis viral.

Se ha encontrado que la amiloidosis de LECT2 es particularmente prevalente en mejicano americanos, y que también está asociada con homocigosidad para el alelo G del gen LECT2 que codifica valina en la posición 40 en la proteína madura (aminoácido 58 en la proteína no procesada). Remítase a, p. ej., Benson, M.D. *et al.* (2008) *Kidney International*, 74: 218-222; Murphy, C. L. *et al.* (2010) *Am J Kidney Dis*, 56(6):1100-1107.

En algunas realizaciones, el sujeto es descendiente mejicano. En algunas realizaciones, el sujeto es un mejicano americano.

En realizaciones, el sujeto porta el alelo G del gen LECT2 que codifica valina en la posición 40 en la proteína madura (aminoácido 58 en la proteína no procesada). En realizaciones, el sujeto es homocigoto para el alelo G (genotipo G/G). En realizaciones, una proteína LECT2 expresada en el sujeto tiene valina en la posición 40 en la proteína madura (o en el aminoácido 58 en la proteína no procesada).

En algunas realizaciones, el método disminuye la expresión de LECT2. En realizaciones, la disminución en la expresión de LECT2 se evalúa con respecto al nivel en el mismo individuo antes del tratamiento. En algunas realizaciones, se muestra que el método disminuye la expresión de LECT2 al comparar los niveles de la expresión de LECT2 en un sujeto tratado (o grupo de sujetos) con los niveles en un sujeto de control (o grupo de sujetos), p. ej., un sujeto no tratado (o grupo de sujetos) o un sujeto (o grupo de sujetos) tratado con un tratamiento de control (p. ej., un ARNi (p. ej., un ARNbc) que no selecciona como diana a LECT2).

En realizaciones, el método reduce la deposición de amiloide, p. ej., deposición de amiloide que comprende una proteína LECT2 o una porción de la misma.

En realizaciones, la proteína es una proteína de tipo natural. En realizaciones, la proteína es una proteína

LECT2 humana, o una porción de la misma, que incluye valina en la posición 40 (posición 40 de la proteína segregada madura, o en el aminoácido 58 en la proteína no procesada, como se describe en la presente). En realizaciones, el método disminuye el tamaño, número, y/o extensión de los depósitos de amiloide.

En realizaciones, el método disminuye uno o más síntomas asociados con deposición de amiloide.

En algunas realizaciones, el ARNbc se administra en una forma que selecciona como diana el ARNbc hacia un órgano o tejido particular para inhibir la deposición de amiloide en el órgano o tejido.

En algunas realizaciones, el ARNbc es seleccionado como diana hacia el hígado. En algunas realizaciones, el ARNbc está conjugado a un ligando, p. ej., un ligando GalNAc (p. ej., un ligando GalNAc como se describe en la presente) que selecciona como diana el ARNbc hacia el hígado (p. ej., hacia los hepatocitos).

También se proporciona en la presente un método para reducir la deposición de amiloide, comprendiendo el método administrar un ARNbc como se define en la presente a un sujeto que lo necesita (p. ej., un sujeto que tiene, que se sospecha que tiene, o está en riesgo de desarrollar una amiloidosis de LECT2). En realizaciones, el método disminuye (p. ej., previene o disminuye) el tamaño, número,

y/o extensión de los depósitos de amiloide. El tamaño, número y/o extensión de los depósitos de amiloide se pueden evaluar usando cualquier método conocido en la técnica (p. ej., inmunoensayo, inmunohistoquímica, espectrometría de masas). La reducción de la deposición de amiloide puede implicar una disminución en la deposición de amiloide (p. ej., tamaño, número, y/o extensión de los depósitos de amiloide) de al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% o más.

En los métodos proporcionados en la presente, el ARNi (p. ej., ARNbc) y sus composiciones se administran en una cantidad terapéuticamente eficaz. Los efectos terapéuticos de la administración de un ARNip de LECT2 se pueden establecer, por ejemplo, mediante comparación con un control apropiado. Por ejemplo, la inhibición de la deposición de amiloide se puede establecer, por ejemplo, en un grupo de pacientes con amiloidosis (p. ej., amiloidosis de LECT2) mediante comparación de cualquier parámetro apropiado (p. ej., un parámetro que evalúa el tamaño, número, o extensión de la deposición de amiloide) con el mismo parámetro en un grupo de control apropiado. Un grupo de control (p. ej., un grupo de individuos similares o el mismo grupo de individuos en un diseño cruzado) puede incluir, por ejemplo, una población no tratada, una población que ha sido tratada con un tratada convencional;

una población que ha sido tratada con placebo o un ARNi que no selecciona ninguna diana; y similar.

Artritis Reumatoide

La artritis reumatoide es también un trastorno relacionado con expresión de LECT2. En particular, en una población japonesa, se encontró que la posesión de un alelo A del gen LECT2 que codifica isoleucina en la posición 40 en la proteína segregada madura (o aminoácido 58 en la proteína no procesada) incrementa el riesgo global de desarrollar artritis reumatoide. La posesión de dos alelos A estaba fuertemente asociada con la gravedad de la enfermedad. Remítase a Kameoka, Y. *et al.* (2000) *Arth Rheum*, 43(6):1419-20.

En una realización de los métodos proporcionados en la presente, el trastorno relacionado con la expresión de LECT2 es artritis reumatoide. En una realización, el ARNbc inhibe la expresión de LECT2 en un sujeto que tiene artritis reumatoide. En algunas de tales realizaciones, el ARNbc inhibe la expresión en células de LECT2 en tejido sinovial y/o en células derivadas de fluido sinovial (p. ej., células mononucleares y fibroblastos). En algunas realizaciones, el ARNbc selecciona como diana un ARNm que codifica isoleucina en la posición 40 en la proteína madura (aminoácido 58 en la proteína no procesada).

Lesión Hepática

La expresión de LECT2 puede aumentar durante lesión hepática aguda.

En una realización de los métodos proporcionados en la presente, el trastorno relacionado con la expresión de LECT2 es lesión hepática aguda. En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) modula (p. ej., incrementa o disminuye) la expresión de LECT2. En realizaciones, el ARNi modula la expresión de LECT2 en el hígado. En realizaciones, el ARNi disminuye la expresión de LECT2 en el hígado. En realizaciones, el ARNi incrementa la expresión de LECT2 en el hígado.

Terapias de Combinación

En realizaciones, un ARNi (p. ej., un ARNbc descrito en la presente se administra en combinación con una segunda terapia (p. ej., una o más terapias adicionales) que se sabe que es eficaz tratando un trastorno relacionado con la expresión de LECT2 (p. ej., una amiloidosis de LECT2) o un síntoma de tal trastorno. El ARNi se puede administrar antes, después, o concurrentemente con la segunda terapia. En realizaciones, el ARNi se administra antes de la segunda terapia. En realizaciones, el ARNi se administra después de la segunda terapia. En realizaciones, el ARNi se administra concurrentemente con la segunda terapia.

La segunda terapia puede ser un agente terapéutico adicional. El ARNi y el agente terapéutico adicional se

pueden administrar en combinación en la misma composición, o el agente terapéutico adicional se puede administrar como parte de una composición separada.

En algunas realizaciones, la segunda terapia es un agente terapéutico no ARNi que es eficaz para tratar el trastorno o síntomas del trastorno.

En algunas realizaciones, el trastorno a tratar mediante las composiciones o métodos descritos en la presente es una amiloidosis de LECT2 que afecta a la función renal, p. ej., a través de la deposición de amiloide en el riñón. En alguna de tales realizaciones, el ARNi se administra conjuntamente con una terapia que respalda la función renal (p. ej., diálisis, un diurético, un inhibidor de la enzima conversora de angiotensina (ACE), un bloqueador del receptor de angiotensina (ARB), o diálisis).

En algunas realizaciones, el trastorno a tratar por las composiciones o métodos descritos en la presente es una amiloidosis de LECT2 que implica depósitos de amiloide en el hígado. En algunas de tales realizaciones, el ARNi se administra conjuntamente con una terapia que respalda la función hepática.

En algunas realizaciones, el trastorno a tratar por las composiciones o métodos descritos en la presente es una amiloidosis de LECT2, y el ARNi se administra conjuntamente

con la eliminación de todo o todos o parte del órgano u órganos afectados por la amiloidosis (p. ej., resección de todo o parte del tejido renal o hepático afectado por la amiloidosis). La eliminación se lleva a cabo opcionalmente junto con una sustitución de todo o parte del órgano eliminado (p. ej., conjuntamente con un transplante de órgano de riñón o de hígado).

Dosis, rutas, y tiempo de administración

Se puede administrar a un sujeto (p. ej., un sujeto humano, p. ej., un paciente) una cantidad terapéutica de ARNi. La cantidad terapéutica puede ser, p. ej., de 0.05-50 mg/kg. Por ejemplo, la cantidad terapéutica puede ser de 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2.0 o 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 mg/kg de ARNbc.

En algunas realizaciones, el ARNi se formula para el suministro al órgano diana, p. ej., al hígado.

En algunas realizaciones, el ARNi se formula como una formulación lipídica, p. ej., una formulación LNP según se describe en la presente. En algunas realizaciones de este tipo, la cantidad terapéutica es de 0.05-5 mg/kg, p. ej., de 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 o 5.0 mg/kg de ARNbc. En algunas realizaciones, la formulación lipídica, p. ej., una formulación LNP, se administra por vía intravenosa. En

realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) se formula como una formulación de LNP y se administra (p. ej., se administra intravenosamente) a una dosis de 0.1 a 0.5 mg/kg.

En algunas realizaciones, el ARNi se administra mediante una infusión intravenosa durante un periodo de tiempo tal como durante un periodo de 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos o 25 minutos.

En algunas realizaciones, el ARNi se encuentra en forma de un conjugado de tipo GalNAc según se describe en la presente. En algunas realizaciones de este tipo, la cantidad terapéutica es de 0.5-50 mg, p. ej., de 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 mg/kg de ARNbc. En algunas realizaciones, el conjugado de tipo GalNAc se administra por vía subcutánea. En realizaciones, el ARNi (p. ej., ARNbc) está en forma de un conjugado de GalNAc y se administra (p. ej., se administra subcutáneamente) a una dosis de 1 a 10 mg/kg.

En algunas realizaciones, la administración se repite, por ejemplo, de forma regular, tal como diariamente, cada dos semanas durante un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses o más. Después de un régimen de tratamiento inicial, los tratamientos se pueden administrar con menos frecuencia. Por ejemplo, después de la administración cada

dos semanas durante tres meses, la administración se puede repetir una vez al mes durante seis meses o un año o más.

En algunas realizaciones, el agente de ARNi se administra en dos o más dosis. En algunas realizaciones, el número o la cantidad de dosis posteriores depende de la obtención del efecto deseado, p. ej., inhibición de la deposición de amiloide, o la obtención de un efecto terapéutico o profiláctico, p. ej., la reducción o la prevención de uno o más síntomas asociados con el trastorno.

En algunas realizaciones, el agente de ARNi se administra siguiendo un programa. Por ejemplo, el agente de ARNi se puede administrar una vez por semana, dos veces por semana, tres veces por semana, cuatro veces por semana o cinco veces por semana. En algunas realizaciones, el programa implica administraciones espaciadas de forma regular, p. ej., cada hora, cada cuatro horas, cada seis horas, cada ocho horas, cada doce horas, diariamente, cada 2 días, cada 3 días, cada 4 días, cada 5 días, semanalmente, una vez cada dos semanas o mensualmente. En algunas realizaciones, el agente de ARNi se administra a la frecuencia requerida para conseguir un efecto deseado.

En algunas realizaciones, el programa implica administraciones poco espaciadas seguidas por un periodo de tiempo más prolongado durante el cual no se administra el

agente. Por ejemplo, el programa puede implicar un conjunto inicial de dosis que se administran en un periodo de tiempo relativamente corto (p. ej., aproximadamente cada 6 horas, aproximadamente cada 12 horas, aproximadamente cada 24 horas, aproximadamente cada 48 horas o aproximadamente cada 72 horas) seguido de un periodo de tiempo más prolongado (p. ej., aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas o aproximadamente 8 semanas) durante el cual no se administra el agente de ARNi. En una realización, el agente de ARNi se administra inicialmente cada hora y posteriormente se administra en un intervalo más prolongado (p. ej., diariamente, semanalmente, cada dos semanas o mensualmente). En otra realización, el agente de ARNi se administra inicialmente de forma diaria y posteriormente se administra en un intervalo más prolongado (p. ej., semanalmente, cada dos semanas o mensualmente). En ciertas realizaciones, el intervalo más prolongado aumenta con el tiempo o se determina en función de la obtención del efecto deseado.

Antes de la administración de una dosis completa del ARNi, se puede administrar a los pacientes una dosis más pequeña, tal como una dosis de infusión de un 5%, y monitorizar a los pacientes en busca de efectos adversos,

tales como una reacción alérgica, o de una presión sanguínea o niveles lipídicos elevados. En otro ejemplo, se puede monitorizar al paciente en busca de efectos no deseados.

Métodos para modular la expresión de un gen LECT2

En otro aspecto más, la invención proporciona un método para modular (p. ej., inhibir o activar) la expresión de un gen LECT2, p. ej., en una célula o en un sujeto. En algunas realizaciones, la célula se encuentra *ex vivo*, *in vitro* o *in vivo*. En algunas realizaciones, la célula está en el hígado (p. ej., un hepatocito). En algunas realizaciones, la célula se encuentra en un sujeto (p. ej., un mamífero tal como, por ejemplo, un ser humano). En algunas realizaciones, el sujeto (p. ej., el ser humano) corre el riesgo de padecer o ha sido diagnosticado con un trastorno relacionado con la expresión de LECT2, según se describe en la presente.

En una realización, el método incluye poner en contacto la célula con un ARNi según se describe en la presente, en una cantidad eficaz para reducir la expresión de un gen LECT2 en la célula. La expresión "poner en contacto", tal como se utiliza en la presente, incluye poner en contacto directamente una célula, así como también poner en contacto indirectamente una célula. Por ejemplo, una célula de un sujeto se puede poner en contacto cuando

se administra una composición que comprende un ARNi (p. ej., por vía intravenosa o por vía subcutánea) al sujeto.

La expresión de un gen LECT2 se puede evaluar en función del nivel de expresión de un ARNm de LECT2, una proteína de LECT2 o el nivel de otro parámetro relacionado funcionalmente con el nivel de expresión de un gen LECT2. En algunas realizaciones, la expresión de LECT2 se mide al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 15%, al menos un 20%, al menos un 25%, al menos un 30%, al menos un 35%, al menos un 40%, al menos un 45%, al menos un 50%, al menos un 55%, al menos un 60%, al menos un 65%, al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90% o al menos un 95%. En algunas realizaciones, el ARNi presenta una CI_{50} comprendida en el intervalo de 0.001-0.01 nM, 0.001-0.10 nM, 0.001-1.0 nM, 0.001-10 nM, 0.01-0.05 nM, 0.01-0.50 nM, 0.02-0.60 nM, 0.01-1.0 nM, 0.01-1.5 nM, 0.01-10 nM. El valor de CI_{50} se puede normalizar respecto a un valor de control adecuado, p. ej., la CI_{50} de un ARNi que no tenga diana.

En algunas realizaciones, el método incluye introducir en la célula un ARNi según se describe en la presente y mantener la célula durante un tiempo suficiente para obtener la degradación del transcrito de ARNm de un gen LECT2, de este modo se inhibe la expresión del gen LECT2 en la célula.

En una realización, el método incluye administrar una composición descrita en la presente, p. ej., una composición que comprende un ARNi que tiene LECT2 como diana, al mamífero de modo que la expresión del gen LECT2 diana se reduzca, por ejemplo, durante un periodo prolongado, p. ej., al menos dos, tres, cuatro días o más, p. ej., una semana, dos semanas, tres semanas o cuatro semanas o más. En algunas realizaciones, la reducción de la expresión de LECT2 se detecta en un periodo de 1 hora, 2 horas, 4 horas, 8 horas, 12 horas o 24 horas desde la primera administración.

En otra realización, el método incluye administrar una composición según se describe en la presente a un mamífero de modo que la expresión del gen LECT2 diana se incremente, p. ej., al menos un 10% en comparación con un animal no tratado. En algunas realizaciones, la activación de LECT2 tiene lugar durante un periodo prolongado, p. ej., al menos dos, tres, cuatro días o más, p. ej., una semana, dos semanas, tres semanas, cuatro semanas o más. Sin pretender vincularse a ninguna teoría, un ARNi puede activar la expresión de LECT2 estabilizando el transcrito de ARNm de LECT2, interaccionando con un promotor en el genoma y/o inhibiendo un inhibidor de la expresión de LECT2.

Los ARNi útiles para los métodos y las composiciones que se exponen en la invención tienen específicamente como

diana ARN (primarios o procesados) de un gen LECT2. Las composiciones y los métodos para inhibir la expresión de un gen LECT2 utilizando ARNi se pueden preparar y aplicar según se describe en otras partes de la presente.

En una realización, el método incluye administrar una composición que contiene un ARNi, donde el ARNi incluye una secuencia de nucleótidos que es complementaria respecto a al menos una parte de un transcrito de ARN del gen LECT2 del sujeto, p. ej. el mamífero, p. ej., el ser humano que se ha de tratar. La composición se puede administrar mediante cualquier medio apropiado conocido en la técnica, que incluye, sin carácter limitante, la vía oral, intraperitoneal o parenteral, incluida la administración intracraneal (p. ej., intraventricular, intraparenquimal e intratecal), intravenosa, intramuscular, subcutánea, transdérmica, a través de las vías respiratorias (aerosol), nasal, rectal y tópica (incluida la bucal y sublingual).

En ciertas realizaciones, la composición se administra mediante una infusión o inyección intravenosa. En algunas realizaciones de este tipo, la composición comprende un ARNip formulado en un líquido (p. ej., una formulación LNP tal como una formulación LNP11) para una infusión intravenosa.

En otras realizaciones, la composición se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones de este tipo,

la composición comprend un ARNi conjugado con un ligando de tipo GalNAc. En algunas de tales realizaciones, el ligando dirige el ARNi al hígado (p. ej., a hepatocitos).

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que interpreta habitualmente un experto en la técnica a la cual pertenece esta invención. Aunque se pueden utilizar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente para poner en práctica o evaluar los ARNi y los métodos que se exponen en la invención, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. Todas las publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en la presente se incorporan por referencia en su totalidad. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluidas sus definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son únicamente ilustrativos y no se pretende que sean limitantes.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. ARNip de LECT2

Las secuencias de los ácidos nucleicos proporcionadas en la presente se representan utilizando la nomenclatura estándar. Remítase a las abreviaciones de la Tabla 1.

Tabla **1**: **Abreviaciones de los monómeros nucleotídicos que se utilizan en la representación de las secuencias de los**

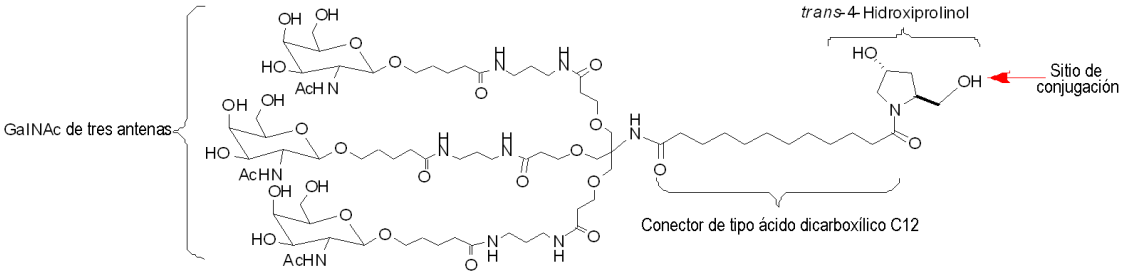
ácidos nucleicos. Se sobreentenderá que estos monómeros, cuando estén presentes en un oligonucleótido, estarán unidos mutuamente mediante enlaces 5'-3'-fosfodiéster.

Abreviación	Nucleótido(s)
A	Adenosin-3’-fosfato
Ab	beta-L-adenosin-3'-fosfato
Abs	beta-L-adenosin-3'-fosforotioato
Af	2’-fluoroadenosin-3’-fosfato
Afs	2’-fluoroadenosin-3’-fosforotioato
As	adenosin-3’-fosforotioato
C	citidin-3’-fosfato
Cb	beta-L-citidin-3'-fosfato
Cbs	beta-L-citidin-3'-fosforotioato
Cf	2’-fluorocitidin-3’-fosfato
Cfs	2’-fluorocitidin-3’-fosforotioato
(Chd)	2'-*O*-hexadecilcitidin-3'-fosfato
(Chds)	2'-*O*-hexadecilcitidin-3'-fosforotioato
Cs	citidin-3’-fosforotioato
G	guanosin-3’-fosfato
Gb	beta-L-guanosin-3'-fosfato
Gbs	beta-L-guanosin-3'-fosforotioato
Gf	2’-fluoroguanosin-3’-fosfato
Gfs	2’-fluoroguanosin-3’-fosforotioato
Gs	guanosin-3’-fosforotioato
T	5’-metiluridin-3’-fosfato

Tb	beta-L-timidin-3'-fosfato
Tbs	beta-L-timidin-3'-fosforotioato
Tf	2’-fluoro-5-metiluridin-3’-fosfato
Tfs	2’-fluoro-5-metiluridin-3’-fosforotioato
Ts	5-metiluridin-3’-fosforotioato
U	uridin-3’-fosfato
Ub	beta-L-uridin-3'-fosfato
Ubs	beta-L-uridin-3'-fosforotioato
Uf	2’-fluorouridin-3’-fosfato
Ufs	2’-fluorouridin -3’-fosforotioato
(Uhd)	2'-*O*-hexadeciluridin-3'-fosfato
(Uhds)	2'-*O*-hexadeciluridin-3'-fosforotioato
Us	uridin-3’-fosforotioato
N	cualquier nucleótido (G, A, C, T o U)
a	2'-*O*-metiladenosin-3’-fosfato
as	2'-*O*-metiladenosin-3’-fosforotioato
c	2'-*O*-metilcitidin-3’-fosfato
cs	2'-*O*-metilcitidin-3’-fosforotioato
g	2'-*O*-metilguanosin-3’-fosfato
gs	2'-*O*-metilguanosin-3’-fosforotioato
t	2’-*O*-metil-5-metiluridin-3’-fosfato
ts	2’-*O*-metil-5-metiluridin-3’-fosforotioato
u	2'-*O*-metiluridin-3’-fosfato
us	2'-*O*-metiluridin-3’-fosforotioato
dA	2'-desoxiadenosin-3'-fosfato

dAs	2'-desoxiadenosin-3'-fosforotioato
dC	2'-desoxicitidin-3'-fosfato
dCs	2'-desoxicitidin-3'-fosforotioato
dG	2'-desoxiguanosin-3'-fosfato
dGs	2'-desoxiguanosin-3'-fosforotioato
dT	2'-desoxitimidina
dTs	2'-desoxitimidin-3'-fosforotioato
dU	2'-desoxiuridina
s	conector de tipo fosforotioato
L96[1]	*N*-[tris(GalNAc-alquil)amidodecanoil)]-4-hidroxiprolinol Hyp(GalNAc-quilo)$_3$
(Aeo)	2'-*O*-metoxietiladenosin-3'-fosfato
(Aeos)	2'-*O*-metoxietiladenosin-3'-fosforotioato
(Geo)	2'-*O*-metoxietilguanosin-3'-fosfato
(Geos)	2'-*O*-metoxietilguanosin-3'-fosforotioato
(Teo)	2'-*O*-metoxietil-5-metiluridin-3'-fosfato
(Teos)	2'-*O*-metoxietil-5-metiluridin-3'-fosforotioato
(m5Ceo)	2'-*O*-metoxietil-5-metilcitidin-3'-fosfato
(m5Ceos)	2'-*O*-metoxietil-5-metilcitidin-3'-fosforotioato

[1]La estructura química de L96 es la siguiente:



Métodos experimentales

Bioinformática

Transcritos

Se llevó a cabo un diseño de ARNip para identificar ARNip que tuvieran como diana transcritos de LECT2 humanos, de macaco (*Macaca fascicularis*; en lo sucesivo “cino”), ratón y rata. El diseño utilizó los siguientes transcritos de la colección de RefSeq del NCBI, registrados en la base de datos de genes del NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/): Humano, NM_002302.2; ratón, NM_010702.1; rata, NM_001108405.1. Para cino, el diseño usó un transcrito secuenciado a partir de una genoteca de ADNc derivada de hígado. Debido a la elevada divergencia de las secuencias de primate/roedor, los dúplex de ARNip se diseñaron en varios lotes separados, que incluyeron, sin carácter limitante, lotes que contenían dúplex que coincidían con transcritos humanos y de cino únicamente; transcritos humanos, de cino, y de ratón únicamente; y transcritos humanos, de cino, de ratón y rata únicamente. La mayoría de los dúplex de ARNip se diseñaron de modo que compartieran una identidad del 100% en la

región diseñada con el transcrito humano enumerado y los transcritos de otras especies considerados en cada lote de diseño (anterior). En algunos casos, se permitieron apareamientos erróneos entre el dúplex y la diana de ARNm en la primera posición antisentido (la última posición sentido) cuando el par de bases complementario de la hebra antisentido:ARNm diana era un par GC o CG (remítase a la Tabla 3, oligos con el marcador G21U, G21A, C21A). En estos casos, los dúplex se designaron con pares UA o AU en el primer par antisentido:último par sentido. De este modo, los dúplex conservaron la complementariedad pero tenían apareamientos erróneos respecto a la diana (U:C, U:G, A:C o A:G).

Diseño, especificidad y predicción de la eficacia de los ARNip

Se pronosticó la especificidad prevista para todos los nonadecámeros posibles a partir de cada secuencia. A continuación, se seleccionaron los nonadecámeros candidatos que carecían de repeticiones de más de 7 nucleótidos. Estos 353 ARNip candidatos humanos/cino, 24 humanos/cino/ratón, y 10 humanos/cino/de ratón/rata se utilizaron en búsquedas exhaustivas frente a transcriptomas adecuados (definidos como el conjunto de registros NM_ y XM_ dentro de los conjuntos de Refseq del NCBI para humanos, cino, ratones o ratas) utilizando un algoritmo exhaustivo de "fuerza bruta"

implementado en el script Python ‘BruteForce.py’. A continuación, el script analizó las alineaciones de transcrito-oligo para generar una puntuación basada en la posición y el número de apareamientos erróneos entre el ARNip y cualquier transcrito "alejado de la diana" potencial. La puntuación alejada de la diana se pondera para enfatizar las diferencias en la región "semilla" de los ARNip, en las posiciones 2-9 partiendo del extremo 5' de la molécula. A cada par de oligo-transcrito de la búsqueda de fuerza bruta se le otorgó una puntuación de apareamientos erróneos sumando las puntuaciones de apareamientos erróneos individuales; los apareamientos erróneos en las posiciones 2-9 se contaron como 2.8, los apareamientos erróneos en las posiciones de los sitios de escisión 10-11 se contaron como 1.2 y los apareamientos erróneos en la región 12-19 se contaron como 1.0. Se realizó una predicción alejada de la diana adicional comparando la frecuencia de los heptámeros y octómeros derivados de 3 hexámeros diferentes derivados de la región semilla de cada oligo. Los hexámeros de las posiciones 2-7 con relación al inicio 5' se utilizan para crear 2 heptámeros y un octómero. Se creó un "heptámero 1" añadiendo una A 3' al hexámero; hemos creado el heptámero 2 añadiendo una A 5' al hexámero; hemos creado el octómero añadiendo una A a ambos extremos 5' y 3' del hexámero. Se

precalculó la frecuencia de los octómeros y heptámeros en 3'UTRome humana, cino, ratón o rata (que se define como la subsecuencia del transcriptoma de la base de datos de Refseq del NCBI en la que el extremo de la región codificante, la "CDS", está claramente definido). La frecuencia de los octómeros se normalizó respecto a la frecuencia de los heptámeros utilizando el valor mediano de la gama de frecuencias de los octómeros. A continuación, se calculó una puntuación "mirSeedScore" calculando la suma de ((3 X recuento de octómeros normalizado) + (2 X recuento del heptámero 2) + (1 X recuento del heptámero 1)).

Ambas hebras de ARNip fueron asignadas a una categoría de especificidad de acuerdo con las puntuaciones calculadas: una puntuación por encima de 3 se califica como altamente específica, igual a 3 como específica y entre 2.2 y 2.8 como moderadamente específica. Los dúplex se clasificaron según la especificidad de la hebra antisentido, y a continuación se seleccionaron dúplex moderadamente (o más) específicos cuyos oligos antisentido poseían características de dúplex con una eficacia prevista elevada, incluyendo el contenido máximo de UA en la región de siembra y un contenido global bajo de GC. Se seleccionaron 23 pares de oligo sentido:antisentido humanos/cino/de ratón, incluyendo 6 en los que la primera posición antisentido se permutó a UA (más arriba). De forma

similar, se seleccionaron 24 pares de oligo humanos/cino, y 5 pares de oligo humanos/cino/de ratón/rata. Los oligos antisentido seleccionados se extendieron entonces hasta 23 nucleótidos en longitud, y los oligos sentido hasta 21 nucleótidos en longitud. Los 48 pares de oligos que todavía coincidieron completamente al menos transcritos humanos y cino (excluyendo la primera posición para las secuencias permutadas por UA) se seleccionaron entonces para la síntesis y recombinación en dúplex (Tabla 3).

También se seleccionó un conjunto de 198 pares de oligos 19 meros que se emparejaron con al menos el transcrito de LECT2 humano. Éstos se seleccionaron para que tuviesen al menos un emparejamiento erróneo con todos los otros transcritos humanos anotados, y poseen buena eficacia predicha como antes. (Tabla 2)

Tabla 2: Secuencias de los dúplex y de las hebras individuales modificadas de LECT2 humano

SEQ ID NO: (sentido)	SEQ ID NO: (anti-sentido)	Nombre del oligo	Posición de inicio en el transcrito NM_002302.2	Secuencia sentido (5’-3’)	Secuencia antisentido (5’-3’)
2	3	NM_002302.2_1-19_s	1	AAAUCAAAUAGCUAUCCAU	AUGGAUAGCUAUUUGAUUU
4	5	NM_002302.2_7-25_s	7	AAUAGCUAUCCAUGGAAUA	UAUUCCAUGGAUAGCUAUU
6	7	NM_002302.2_13-31_s	13	UAUCCAUGGAAUAUUAGAA	UUCUAAUAUUCCAUGGAUA
8	9	NM_002302.2_18-36_s	18	AUGGAAUAUUAGAACUUGA	UCAAGUUCUAAUAUUCCAU
10	11	NM_002302.2_21-39_s	21	GAAUAUUAGAACUUGACUU	AAGUCAAGUUCUAAUAUUC
12	13	NM_002302.2_28-46_s	28	AGAACUUGACUUGCUCCAU	AUGGAGCAAGUCAAGUUCU
14	15	NM_002302.2_29-47_s	29	GAACUUGACUUGCUCCAUC	GAUGGAGCAAGUCAAGUUC
16	17	NM_002302.2_34-52_s	34	UGACUUGCUCCAUCCUCUU	AAGAGGAUGGAGCAAGUCA
18	19	NM_002302.2_43-61_s	43	CCAUCCUCUUAAACUUUUU	AAAAAGUUUAAGAGGAUGG
20	21	NM_002302.2_47-65_s	47	CCUCUUAAACUUUUUGUGU	ACACAAAAAGUUUAAGAGG

22	23	NM_002302.2_49-67_s	49	UCUUAAACUUUUUGUGUCU	AGACACAAAAAGUUUAAGA
24	25	NM_002302.2_56-74_s	56	CUUUUUGUGUCUCACACUA	UAGUGUGAGACACAAAAAG
26	27	NM_002302.2_62-80_s	62	GUGUCUCACACUAAAGAAA	UUUCUUUAGUGUGAGACAC
28	29	NM_002302.2_67-85_s	67	UCACACUAAAGAAAUGAGA	UCUCAUUUCUUUAGUGUGA
30	31	NM_002302.2_69-87_s	69	ACACUAAAGAAAUGAGAGA	UCUCUCAUUUCUUUAGUGU
32	33	NM_002302.2_76-94_s	76	AGAAAUGAGAGAUGCAGAA	UUCUGCAUCUCUCAUUUCU
34	35	NM_002302.2_82-100_s	82	GAGAGAUGCAGAAUUCUAA	UUAGAAUUCUGCAUCUCUC
36	37	NM_002302.2_87-105_s	87	AUGCAGAAUUCUAAGGCUA	UAGCCUUAGAAUUCUGCAU
38	39	NM_002302.2_92-110_s	92	GAAUUCUAAGGCUAAAUAG	CUAUUUAGCCUUAGAAUUC
40	41	NM_002302.2_95-113_s	95	UUCUAAGGCUAAAUAGCUA	UAGCUAUUUAGCCUUAGAA
42	43	NM_002302.2_103-121_s	103	CUAAAUAGCUAGGAAGUAU	AUACUUCCUAGCUAUUUAG
44	45	NM_002302.2_107-125_s	107	AUAGCUAGGAAGUAUUCAU	AUGAAUACUUCCUAGCUAU
46	47	NM_002302.2_114-132_s	114	GGAAGUAUUCAUUCAAACU	AGUUUGAAUGAAUACUUCC
48	49	NM_002302.2_123-141_s	123	CAUUCAAACUUGAAUAUUC	GAAUAUUCAAGUUUGAAUG
50	51	NM_002302.2_131-149_s	131	CUUGAAUAUUCUUCAAAGA	UCUUUGAAGAAUAUUCAAG
52	53	NM_002302.2_141-159_s	141	CUUCAAAGAGAGUGUGGGG	CCCCACACUCUCUUUGAAG
54	55	NM_002302.2_144-162_s	144	CAAAGAGAGUGUGGGGGCA	UGCCCCCACACUCUCUUUG

56	57	NM_002302.2_152-170_s	152	GUGUGGGGGCAACUCUAAU	AUUAGAGUUGCCCCCACAC
58	59	NM_002302.2_156-174_s	156	GGGGGCAACUCUAAUCAGA	UCUGAUUAGAGUUGCCCCC
60	61	NM_002302.2_162-180_s	162	AACUCUAAUCAGAGGAAGA	UCUUCCUCUGAUUAGAGUU
62	63	NM_002302.2_168-186_s	168	AAUCAGAGGAAGAAACUAA	UUAGUUUCUUCCUCUGAUU
64	65	NM_002302.2_169-187_s	169	AUCAGAGGAAGAAACUAAA	UUUAGUUUCUUCCUCUGAU
66	67	NM_002302.2_178-196_s	178	AGAAACUAAAGGAAGUAAA	UUUACUUCCUUUAGUUUCU
68	69	NM_002302.2_179-197_s	179	GAAACUAAAGGAAGUAAAA	UUUUACUUCCUUUAGUUUC
70	71	NM_002302.2_184-202_s	184	UAAAGGAAGUAAAACCAGA	UCUGGUUUUACUUCCUUUA
72	73	NM_002302.2_190-208_s	190	AAGUAAAACCAGAUGUUUU	AAAACAUCUGGUUUUACUU
74	75	NM_002302.2_198-216_s	198	CCAGAUGUUUUCCACCAAA	UUUGGUGGAAAACAUCUGG
76	77	NM_002302.2_199-217_s	199	CAGAUGUUUUCCACCAAAG	CUUUGGUGGAAAACAUCUG
78	79	NM_002302.2_208-226_s	208	UCCACCAAAGCCCUCCUUU	AAAGGAGGGCUUUGGUGGA
80	81	NM_002302.2_209-227_s	209	CCACCAAAGCCCUCCUUUU	AAAAGGAGGGCUUUGGUGG
82	83	NM_002302.2_218-236_s	218	CCCUCCUUUUGGCUGGUCU	AGACCAGCCAAAAGGAGGG
84	85	NM_002302.2_228-246_s	228	GGCUGGUCUGAUUUCUACC	GGUAGAAAUCAGACCAGCC
86	87	NM_002302.2_232-250_s	232	GGUCUGAUUUCUACCGCAC	GUGCGGUAGAAAUCAGACC
88	89	NM_002302.2_237-255_s	237	GAUUUCUACCGCACUGGCA	UGCCAGUGCGGUAGAAAUC

90	91	NM_002302.2_243-261_s	243	UACCGCACUGGCAGGGCCA	UGGCCCUGCCAGUGCGGUA
92	93	NM_002302.2_245-263_s	245	CCGCACUGGCAGGGCCAUG	CAUGGCCCUGCCAGUGCGG
94	95	NM_002302.2_252-270_s	252	GGCAGGGCCAUGGGCUAAU	AUUAGCCCAUGGCCCUGCC
96	97	NM_002302.2_258-276_s	258	GCCAUGGGCUAAUAUAUGU	ACAUAUAUUAGCCCAUGGC
98	99	NM_002302.2_259-277_s	259	CCAUGGGCUAAUAUAUGUG	CACAUAUAUUAGCCCAUGG
100	101	NM_002302.2_266-284_s	266	CUAAUAUAUGUGCUGGCAA	UUGCCAGCACAUAUAUUAG
102	103	NM_002302.2_271-289_s	271	AUAUGUGCUGGCAAGUCUU	AAGACUUGCCAGCACAUAU
104	105	NM_002302.2_278-296_s	278	CUGGCAAGUCUUCCAAUGA	UCAUUGGAAGACUUGCCAG
106	107	NM_002302.2_281-299_s	281	GCAAGUCUUCCAAUGAGAU	AUCUCAUUGGAAGACUUGC
108	109	NM_002302.2_286-304_s	286	UCUUCCAAUGAGAUCCGGA	UCCGGAUCUCAUUGGAAGA
110	111	NM_002302.2_293-311_s	293	AUGAGAUCCGGACGUGUGA	UCACACGUCCGGAUCUCAU
112	113	NM_002302.2_297-315_s	297	GAUCCGGACGUGUGACCGC	GCGGUCACACGUCCGGAUC
114	115	NM_002302.2_301-319_s	301	CGGACGUGUGACCGCCAUG	CAUGGCGGUCACACGUCCG
116	117	NM_002302.2_304-322_s	304	ACGUGUGACCGCCAUGGCU	AGCCAUGGCGGUCACACGU
118	119	NM_002302.2_312-330_s	312	CCGCCAUGGCUGUGGACAG	CUGUCCACAGCCAUGGCGG
120	121	NM_002302.2_315-333_s	315	CCAUGGCUGUGGACAGUAC	GUACUGUCCACAGCCAUGG
122	123	NM_002302.2_319-337_s	319	GGCUGUGGACAGUACUCUG	CAGAGUACUGUCCACAGCC

124	125	NM_002302.2_330-348_s	330	GUACUCUGCUCAAAGAAGU	ACUUCUUUGAGCAGAGUAC
126	127	NM_002302.2_334-352_s	334	UCUGCUCAAAGAAGUCAGA	UCUGACUUCUUUGAGCAGA
128	129	NM_002302.2_340-358_s	340	CAAAGAAGUCAGAGGCCUC	GAGGCCUCUGACUUCUUUG
130	131	NM_002302.2_345-363_s	345	AAGUCAGAGGCCUCACCAG	CUGGUGAGGCCUCUGACUU
132	133	NM_002302.2_351-369_s	351	GAGGCCUCACCAGGGUGUG	CACACCCUGGUGAGGCCUC
134	135	NM_002302.2_354-372_s	354	GCCUCACCAGGGUGUGGAC	GUCCACACCCUGGUGAGGC
136	137	NM_002302.2_360-378_s	360	CCAGGGUGUGGACAUCUUG	CAAGAUGUCCACACCCUGG
138	139	NM_002302.2_364-382_s	364	GGUGUGGACAUCUUGUGCU	AGCACAAGAUGUCCACACC
140	141	NM_002302.2_371-389_s	371	ACAUCUUGUGCUCUGCUGG	CCAGCAGAGCACAAGAUGU
142	143	NM_002302.2_378-396_s	378	GUGCUCUGCUGGAUCUACU	AGUAGAUCCAGCAGAGCAC
144	145	NM_002302.2_383-401_s	383	CUGCUGGAUCUACUGUGUA	UACACAGUAGAUCCAGCAG
146	147	NM_002302.2_388-406_s	388	GGAUCUACUGUGUACGCAC	GUGCGUACACAGUAGAUCC
148	149	NM_002302.2_392-410_s	392	CUACUGUGUACGCACCAUU	AAUGGUGCGUACACAGUAG
150	151	NM_002302.2_395-413_s	395	CUGUGUACGCACCAUUCAC	GUGAAUGGUGCGUACACAG
152	153	NM_002302.2_403-421_s	403	GCACCAUUCACUGGAAUGA	UCAUUCCAGUGAAUGGUGC
154	155	NM_002302.2_406-424_s	406	CCAUUCACUGGAAUGAUUG	CAAUCAUUCCAGUGAAUGG
156	157	NM_002302.2_413-431_s	413	CUGGAAUGAUUGUGGGCCA	UGGCCCACAAUCAUUCCAG

158	159	NM_002302.2_416-434_s	416	GAAUGAUUGUGGGCCAGGA	UCCUGGCCCACAAUCAUUC
160	161	NM_002302.2_420-438_s	420	GAUUGUGGGCCAGGAGAAA	UUUCUCCUGGCCCACAAUC
162	163	NM_002302.2_426-444_s	426	GGGCCAGGAGAAACCUUAU	AUAAGGUUUCUCCUGGCCC
164	165	NM_002302.2_430-448_s	430	CAGGAGAAACCUUAUCAAA	UUUGAUAAGGUUUCUCCUG
166	167	NM_002302.2_436-454_s	436	AAACCUUAUCAAAACAAGA	UCUUGUUUUGAUAAGGUUU
168	169	NM_002302.2_442-460_s	442	UAUCAAAACAAGAAUGCUA	UAGCAUUCUUGUUUUGAUA
170	171	NM_002302.2_448-466_s	448	AACAAGAAUGCUAUCAAUA	UAUUGAUAGCAUUCUUGUU
172	173	NM_002302.2_450-468_s	450	CAAGAAUGCUAUCAAUAAU	AUUAUUGAUAGCAUUCUUG
174	175	NM_002302.2_462-480_s	462	CAAUAAUGGUGUUCGAAUA	UAUUCGAACACCAUUAUUG
176	177	NM_002302.2_465-483_s	465	UAAUGGUGUUCGAAUAUCU	AGAUAUUCGAACACCAUUA
178	179	NM_002302.2_471-489_s	471	UGUUCGAAUAUCUGGAAGA	UCUUCCAGAUAUUCGAACA
180	181	NM_002302.2_478-496_s	478	AUAUCUGGAAGAGGUUUUU	AAAAACCUCUUCCAGAUAU
182	183	NM_002302.2_480-498_s	480	AUCUGGAAGAGGUUUUUGU	ACAAAAACCUCUUCCAGAU
184	185	NM_002302.2_487-505_s	487	AGAGGUUUUUGUGUCAAAA	UUUUGACACAAAAACCUCU
186	187	NM_002302.2_490-508_s	490	GGUUUUUGUGUCAAAAUGU	ACAUUUUGACACAAAAACC
188	189	NM_002302.2_497-515_s	497	GUGUCAAAAUGUUCUACAU	AUGUAGAACAUUUUGACAC
190	191	NM_002302.2_500-518_s	500	UCAAAAUGUUCUACAUUAA	UUAAUGUAGAACAUUUUGA

192	193	NM_002302.2_506-524_s	506	UGUUCUACAUUAAGCCAAU	AUUGGCUUAAUGUAGAACA
194	195	NM_002302.2_528-546_s	528	GUAUAAAGGUCCUAUUAAG	CUUAAUAGGACCUUUAUAC
196	197	NM_002302.2_529-547_s	529	UAUAAAGGUCCUAUUAAGA	UCUUAAUAGGACCUUUAUA
198	199	NM_002302.2_538-556_s	538	CCUAUUAAGAAGGGAGAAA	UUUCUCCCUUCUUAAUAGG
200	201	NM_002302.2_539-557_s	539	CUAUUAAGAAGGGAGAAAA	UUUUCUCCCUUCUUAAUAG
202	203	NM_002302.2_544-562_s	544	AAGAAGGGAGAAAAACUUG	CAAGUUUUUCUCCCUUCUU
204	205	NM_002302.2_552-570_s	552	AGAAAAACUUGGAACUCUA	UAGAGUUCCAAGUUUUUCU
206	207	NM_002302.2_555-573_s	555	AAAACUUGGAACUCUAUUG	CAAUAGAGUUCCAAGUUUU
208	209	NM_002302.2_559-577_s	559	CUUGGAACUCUAUUGCCCU	AGGGCAAUAGAGUUCCAAG
210	211	NM_002302.2_566-584_s	566	CUCUAUUGCCCUUGCAGAA	UUCUGCAAGGGCAAUAGAG
212	213	NM_002302.2_573-591_s	573	GCCCUUGCAGAAAGUUUAU	AUAAACUUUCUGCAAGGGC
214	215	NM_002302.2_574-592_s	574	CCCUUGCAGAAAGUUUAUC	GAUAAACUUUCUGCAAGGG
216	217	NM_002302.2_581-599_s	581	AGAAAGUUUAUCCUGGCAU	AUGCCAGGAUAAACUUUCU
218	219	NM_002302.2_585-603_s	585	AGUUUAUCCUGGCAUACAA	UUGUAUGCCAGGAUAAACU
220	221	NM_002302.2_592-610_s	592	CCUGGCAUACAAUCGCAUG	CAUGCGAUUGUAUGCCAGG
222	223	NM_002302.2_598-616_s	598	AUACAAUCGCAUGUGCACA	UGUGCACAUGCGAUUGUAU
224	225	NM_002302.2_603-621_s	603	AUCGCAUGUGCACAUUGAA	UUCAAUGUGCACAUGCGAU

226	227	NM_002302.2_606-624_s	606	GCAUGUGCACAUUGAAAAC	GUUUUCAAUGUGCACAUGC
228	229	NM_002302.2_611-629_s	611	UGCACAUUGAAAACUGUGA	UCACAGUUUUCAAUGUGCA
230	231	NM_002302.2_616-634_s	616	AUUGAAAACUGUGACUCGA	UCGAGUCACAGUUUUCAAU
232	233	NM_002302.2_620-638_s	620	AAAACUGUGACUCGAGUGA	UCACUCGAGUCACAGUUUU
234	235	NM_002302.2_625-643_s	625	UGUGACUCGAGUGACCCUA	UAGGGUCACUCGAGUCACA
236	237	NM_002302.2_633-651_s	633	GAGUGACCCUACUGCAUAC	GUAUGCAGUAGGGUCACUC
238	239	NM_002302.2_637-655_s	637	GACCCUACUGCAUACCUGU	ACAGGUAUGCAGUAGGGUC
240	241	NM_002302.2_640-658_s	640	CCUACUGCAUACCUGUAAA	UUUACAGGUAUGCAGUAGG
242	243	NM_002302.2_644-662_s	644	CUGCAUACCUGUAAAUCGA	UCGAUUUACAGGUAUGCAG
244	245	NM_002302.2_651-669_s	651	CCUGUAAAUCGAAGGCCAA	UUGGCCUUCGAUUUACAGG
246	247	NM_002302.2_657-675_s	657	AAUCGAAGGCCAAUGGUCA	UGACCAUUGGCCUUCGAUU
248	249	NM_002302.2_663-681_s	663	AGGCCAAUGGUCAGAUCUU	AAGAUCUGACCAUUGGCCU
250	251	NM_002302.2_667-685_s	667	CAAUGGUCAGAUCUUCAAA	UUUGAAGAUCUGACCAUUG
252	253	NM_002302.2_674-692_s	674	CAGAUCUUCAAAAUAAAAA	UUUUUAUUUUGAAGAUCUG
254	255	NM_002302.2_686-704_s	686	AUAAAAAGUCAUCUUAAAA	UUUUAAGAUGACUUUUUAU
256	257	NM_002302.2_691-709_s	691	AAGUCAUCUUAAAAACCUG	CAGGUUUUUAAGAUGACUU
258	259	NM_002302.2_698-716_s	698	CUUAAAAACCUGGAUGCAU	AUGCAUCCAGGUUUUUAAG

260	261	NM_002302.2_699-717_s	699	UUAAAAACCUGGAUGCAUA	UAUGCAUCCAGGUUUUUAA
262	263	NM_002302.2_706-724_s	706	CCUGGAUGCAUACCCUUCU	AGAAGGGUAUGCAUCCAGG
264	265	NM_002302.2_709-727_s	709	GGAUGCAUACCCUUCUCUU	AAGAGAAGGGUAUGCAUCC
266	267	NM_002302.2_716-734_s	716	UACCCUUCUCUUCAAGAAA	UUUCUUGAAGAGAAGGGUA
268	269	NM_002302.2_719-737_s	719	CCUUCUCUUCAAGAAAUUU	AAAUUUCUUGAAGAGAAGG
270	271	NM_002302.2_728-746_s	728	CAAGAAAUUUGUGUUCACA	UGUGAACACAAAUUUCUUG
272	273	NM_002302.2_730-748_s	730	AGAAAUUUGUGUUCACAAA	UUUGUGAACACAAAUUUCU
274	275	NM_002302.2_736-754_s	736	UUGUGUUCACAAAGGAAAA	UUUUCCUUUGUGAACACAA
276	277	NM_002302.2_743-761_s	743	CACAAAGGAAAAAUGCAUG	CAUGCAUUUUUCCUUUGUG
278	279	NM_002302.2_745-763_s	745	CAAAGGAAAAAUGCAUGAA	UUCAUGCAUUUUUCCUUUG
280	281	NM_002302.2_750-768_s	750	GAAAAAUGCAUGAAGGGAU	AUCCCUUCAUGCAUUUUUC
282	283	NM_002302.2_755-773_s	755	AUGCAUGAAGGGAUGGAUA	UAUCCAUCCCUUCAUGCAU
284	285	NM_002302.2_763-781_s	763	AGGGAUGGAUACCCCAUUU	AAAUGGGGUAUCCAUCCCU
286	287	NM_002302.2_764-782_s	764	GGGAUGGAUACCCCAUUUU	AAAAUGGGGUAUCCAUCCC
288	289	NM_002302.2_773-791_s	773	ACCCCAUUUUCCAUGACAU	AUGUCAUGGAAAAUGGGGU
290	291	NM_002302.2_774-792_s	774	CCCCAUUUUCCAUGACAUG	CAUGUCAUGGAAAAUGGGG
292	293	NM_002302.2_783-801_s	783	CCAUGACAUGAUUAUUACA	UGUAAUAAUCAUGUCAUGG

294	295	NM_002302.2_786-804_s	786	UGACAUGAUUAUUACACAU	AUGUGUAAUAAUCAUGUCA
296	297	NM_002302.2_792-810_s	792	GAUUAUUACACAUUGCAUG	CAUGCAAUGUGUAAUAAUC
298	299	NM_002302.2_798-816_s	798	UACACAUUGCAUGCCUGUA	UACAGGCAUGCAAUGUGUA
300	301	NM_002302.2_803-821_s	803	AUUGCAUGCCUGUAUCAAA	UUUGAUACAGGCAUGCAAU
302	303	NM_002302.2_804-822_s	804	UUGCAUGCCUGUAUCAAAA	UUUUGAUACAGGCAUGCAA
304	305	NM_002302.2_815-833_s	815	UAUCAAAACAUCUCACGUA	UACGUGAGAUGUUUUGAUA
306	307	NM_002302.2_823-841_s	823	CAUCUCACGUACCUCAUAA	UUAUGAGGUACGUGAGAUG
308	309	NM_002302.2_828-846_s	828	CACGUACCUCAUAAACAUA	UAUGUUUAUGAGGUACGUG
310	311	NM_002302.2_830-848_s	830	CGUACCUCAUAAACAUAUA	UAUAUGUUUAUGAGGUACG
312	313	NM_002302.2_840-858_s	840	AAACAUAUACACCUAUGUA	UACAUAGGUGUAUAUGUUU
314	315	NM_002302.2_848-866_s	848	ACACCUAUGUACCCACAAA	UUUGUGGGUACAUAGGUGU
316	317	NM_002302.2_849-867_s	849	CACCUAUGUACCCACAAAA	UUUUGUGGGUACAUAGGUG
318	319	NM_002302.2_858-876_s	858	ACCCACAAAAAUUUUUUAA	UUAAAAAAUUUUUGUGGGU
320	321	NM_002302.2_863-881_s	863	CAAAAAUUUUUUAAUUAAA	UUUAAUUAAAAAAUUUUUG
322	323	NM_002302.2_872-890_s	872	UUUAAUUAAAAAAAGGAAA	UUUCCUUUUUUUAAUUAAA
324	325	NM_002302.2_877-895_s	877	UUAAAAAAAGGAAAUUUGA	UCAAAUUUCCUUUUUUUAA
326	327	NM_002302.2_883-901_s	883	AAAGGAAAUUUGAGUUUAA	UUAAACUCAAAUUUCCUUU

328	329	NM_002302.2_886-904_s	886	GGAAAUUUGAGUUUAAAUA	UAUUUAAACUCAAAUUUCC
330	331	NM_002302.2_889-907_s	889	AAUUUGAGUUUAAAUAGAA	UUCUAUUUAAACUCAAAUU
332	333	NM_002302.2_895-913_s	895	AGUUUAAAUAGAAACAUGA	UCAUGUUUCUAUUUAAACU
334	335	NM_002302.2_899-917_s	899	UAAAUAGAAACAUGAUAAA	UUUAUCAUGUUUCUAUUUA
336	337	NM_002302.2_905-923_s	905	GAAACAUGAUAAAUGCAAG	CUUGCAUUUAUCAUGUUUC
338	339	NM_002302.2_912-930_s	912	GAUAAAUGCAAGAAAGAAA	UUUCUUUCUUGCAUUUAUC
340	341	NM_002302.2_915-933_s	915	AAAUGCAAGAAAGAAAACA	UGUUUUCUUUCUUGCAUUU
342	343	NM_002302.2_920-938_s	920	CAAGAAAGAAAACAUUUUG	CAAAAUGUUUUCUUUCUUG
344	345	NM_002302.2_926-944_s	926	AGAAAACAUUUUGAUUUUA	UAAAAUCAAAAUGUUUUCU
346	347	NM_002302.2_932-950_s	932	CAUUUUGAUUUUAACUCAU	AUGAGUUAAAAUCAAAAUG
348	349	NM_002302.2_938-956_s	938	GAUUUUAACUCAUUGUCAC	GUGACAAUGAGUUAAAAUC
350	351	NM_002302.2_939-957_s	939	AUUUUAACUCAUUGUCACU	AGUGACAAUGAGUUAAAAU
352	353	NM_002302.2_948-966_s	948	CAUUGUCACUCUGAUGUUC	GAACAUCAGAGUGACAAUG
354	355	NM_002302.2_950-968_s	950	UUGUCACUCUGAUGUUCAU	AUGAACAUCAGAGUGACAA
356	357	NM_002302.2_956-974_s	956	CUCUGAUGUUCAUGUGAAC	GUUCACAUGAACAUCAGAG
358	359	NM_002302.2_960-978_s	960	GAUGUUCAUGUGAACUGGU	ACCAGUUCACAUGAACAUC
360	361	NM_002302.2_966-984_s	966	CAUGUGAACUGGUUGCUUC	GAAGCAACCAGUUCACAUG

362	363	NM_002302.2_973-991_s	973	ACUGGUUGCUUCGGGCUCU	AGAGCCCGAAGCAACCAGU
364	365	NM_002302.2_977-995_s	977	GUUGCUUCGGGCUCUUUGA	UCAAAGAGCCCGAAGCAAC
366	367	NM_002302.2_980-998_s	980	GCUUCGGGCUCUUUGAUCU	AGAUCAAAGAGCCCGAAGC
368	369	NM_002302.2_984-1002_s	984	CGGGCUCUUUGAUCUGUCA	UGACAGAUCAAAGAGCCCG
370	371	NM_002302.2_989-1007_s	989	UCUUUGAUCUGUCACCUAU	AUAGGUGACAGAUCAAAGA
372	373	NM_002302.2_994-1012_s	994	GAUCUGUCACCUAUGGAAU	AUUCCAUAGGUGACAGAUC
374	375	NM_002302.2_1001-1019_s	1001	CACCUAUGGAAUCUGAGUG	CACUCAGAUUCCAUAGGUG
376	377	NM_002302.2_1008-1026_s	1008	GGAAUCUGAGUGGUUUUAU	AUAAAACCACUCAGAUUCC
378	379	NM_002302.2_1013-1031_s	1013	CUGAGUGGUUUUAUUUUUU	AAAAAAUAAAACCACUCAG
380	381	NM_002302.2_1015-1033_s	1015	GAGUGGUUUUAUUUUUUAG	CUAAAAAAUAAAACCACUC
382	383	NM_002302.2_1019-1037_s	1019	GGUUUUAUUUUUUAGAUUU	AAAUCUAAAAAAUAAAACC
384	385	NM_002302.2_1025-	1025	AUUUUUUAGAUUUCUCAGU	ACUGAGAAAUCUAAAAAAU

		1043_s			
386	387	NM_002302.2_1031-1049_s	1031	UAGAUUUCUCAGUCCCAAA	UUUGGGACUGAGAAAUCUA
388	389	NM_002302.2_1038-1056_s	1038	CUCAGUCCCAAAGAUCUAA	UUAGAUCUUUGGGACUGAG
390	391	NM_002302.2_1043-1061_s	1043	UCCCAAAGAUCUAAGAUAA	UUAUCUUAGAUCUUUGGGA
392	393	NM_002302.2_1046-1064_s	1046	CAAAGAUCUAAGAUAAAUA	UAUUUAUCUUAGAUCUUUG
394	395	NM_002302.2_1053-1071_s	1053	CUAAGAUAAAUAAACAAGA	UCUUGUUUAUUUAUCUUAG
396	397	NM_002302.2_1055-1073_s	1055	AAGAUAAAUAAACAAGAGA	UCUCUUGUUUAUUUAUCUU

Tabla 3: Secuencias de los dúplex y de las hebras individuales de ARNip de LECT2 humano

SEQ ID NO: (sentido)	SEQ ID NO: (anti-sentido)	Nombre del dúplex	Posición de inicio en el transcrito NM_ 002302.2	Secuencia sentido (5'-3')	Secuencia antisentido (5'-3')	Especie[1]
398	399	NM_002302.2_512-534_s	512	AUUAAGCCAAUUAAGUAUAAA	UUUAUACUUAAUUGGCUUAAUGU	HCMR
400	401	NM_002302.2_511-533_s	511	CAUUAAGCCAAUUAAGUAUAA	UUAUACUUAAUUGGCUUAAUGUA	HCMR
402	403	NM_002302.2_508-530_s	508	CUACAUUAAGCCAAUUAAGUA	UACUUAAUUGGCUUAAUGUAGAA	HCMR
404	405	NM_002302.2_509-531_s	509	UACAUUAAGCCAAUUAAGUAU	AUACUUAAUUGGCUUAAUGUAGA	HCMR
406	407	NM_002302.2_510-	510	ACAUUAAGCCAAUUAAGUAUA	UAUACUUAAUUGGCUUAAUGUAG	HCMR

		532_s				
408	409	NM_002302.2_320-342_s	320	UGUGGACAGUACUCUGCUCAA	UUGAGCAGAGUACUGUCCACAGC	HCM
410	411	NM_002302.2_515-537_s	515	AAGCCAAUUAAGUAUAAAGGU	ACCUUUAUACUUAAUUGGCUUAA	HCM
412	413	NM_002302.2_513-535_s	513	UUAAGCCAAUUAAGUAUAAAG	CUUUAUACUUAAUUGGCUUAAUG	HCM
414	415	NM_002302.2_317-339_s	317	GGCUGUGGACAGUACUCUGCU	AGCAGAGUACUGUCCACAGCCAU	HCM
416	417	NM_002302.2_319-341_s	319	CUGUGGACAGUACUCUGCUCA	UGAGCAGAGUACUGUCCACAGCC	HCM
418	419	NM_002302.2_321-343_s	321	GUGGACAGUACUCUGCUCAAA	UUUGAGCAGAGUACUGUCCACAG	HCM
420	421	NM_002302.2_318-340_s	318	GCUGUGGACAGUACUCUGCUC	GAGCAGAGUACUGUCCACAGCCA	HCM
422	423	NM_002302.2_514-536_s	514	UAAGCCAAUUAAGUAUAAAGG	CCUUUAUACUUAAUUGGCUUAAU	HCM

424	425	NM_002302.2_324-346_s	324	GACAGUACUCUGCUCAAAGAA	UUCUUUGAGCAGAGUACUGUCCA	HCM
426	427	NM_002302.2_323-345_s	323	GGACAGUACUCUGCUCAAAGA	UCUUUGAGCAGAGUACUGUCCAC	HCM
428	429	NM_002302.2_322-344_s	322	UGGACAGUACUCUGCUCAAAG	CUUUGAGCAGAGUACUGUCCACA	HCM
430	431	NM_002302.2_513-535_G21U_s	513	UUAAGCCAAUUAAGUAUAAAU	AUUUAUACUUAAUUGGCUUAAUG	HCM
432	433	NM_002302.2_318-340_C21A_s	318	GCUGUGGACAGUACUCUGCUA	UAGCAGAGUACUGUCCACAGCCA	HCM
434	435	NM_002302.2_514-536_G21A_s	514	UAAGCCAAUUAAGUAUAAAGA	UCUUUAUACUUAAUUGGCUUAAU	HCM
436	437	NM_002302.2_322-344_G21U_s	322	UGGACAGUACUCUGCUCAAAU	AUUUGAGCAGAGUACUGUCCACA	HCM
438	439	NM_002302.2_516-538_C21A_s	516	AGCCAAUUAAGUAUAAAGGUA	UACCUUUAUACUUAAUUGGCUUA	HCM
440	441	NM_002302.2_516-	516	AGCCAAUUAAGUAUAAAGGUC	GACCUUUAUACUUAAUUGGCUUA	HCM

		538_s				
442	443	NM_002302.2_507-529_s	507	UCUACAUUAAGCCAAUUAAGU	ACUUAAUUGGCUUAAUGUAGAAC	HC
444	445	NM_002302.2_506-528_s	506	UUCUACAUUAAGCCAAUUAAG	CUUAAUUGGCUUAAUGUAGAACA	HC
446	447	NM_002302.2_505-527_s	505	GUUCUACAUUAAGCCAAUUAA	UUAAUUGGCUUAAUGUAGAACAU	HC
448	449	NM_002302.2_504-526_s	504	UGUUCUACAUUAAGCCAAUUA	UAAUUGGCUUAAUGUAGAACAUU	HC
450	451	NM_002302.2_314-336_s	314	CAUGGCUGUGGACAGUACUCU	AGAGUACUGUCCACAGCCAUGGC	HC
452	453	NM_002302.2_316-338_s	316	UGGCUGUGGACAGUACUCUGC	GCAGAGUACUGUCCACAGCCAUG	HC
454	455	NM_002302.2_506-528_G21A_s	506	UUCUACAUUAAGCCAAUUAAA	UUUAAUUGGCUUAAUGUAGAACA	HC
456	457	NM_002302.2_316-338_C21A_s	316	UGGCUGUGGACAGUACUCUGA	UCAGAGUACUGUCCACAGCCAUG	HC

458	459	NM_002302.2_263-285_G21A_s	263	GCUAAUAUAUGUGCUGGCAAA	UUUGCCAGCACAUAUAUUAGCCC	HC
460	461	NM_002302.2_571-593_C21A_s	571	GCCCUUGCAGAAAGUUUAUCA	UGAUAAACUUUCUGCAAGGGCAA	HC
462	463	NM_002302.2_130-152_G21A_s	130	UUGAAUAUUCUUCAAAGAGAA	UUCUCUUUGAAGAAUAUUCAAGU	HC
464	465	NM_002302.2_263-285_s	263	GCUAAUAUAUGUGCUGGCAAG	CUUGCCAGCACAUAUAUUAGCCC	HC
466	467	NM_002302.2_118-140_s	118	AUUCAUUCAAACUUGAAUAUU	AAUAUUCAAGUUUGAAUGAAUAC	HC
468	469	NM_002302.2_107-129_s	107	AGCUAGGAAGUAUUCAUUCAA	UUGAAUGAAUACUUCCUAGCUAU	HC
470	471	NM_002302.2_665-687_s	665	CAAUGGUCAGAUCUUCAAAAU	AUUUUGAAGAUCUGACCAUUGGC	HC
472	473	NM_002302.2_668-690_s	668	UGGUCAGAUCUUCAAAAUAAA	UUUAUUUUGAAGAUCUGACCAUU	HC
474	475	NM_002302.2_427-	427	CCAGGAGAAACCUUAUCAAAA	UUUUGAUAAGGUUUCUCCUGGCC	HC

		449_s				
476	477	NM_002302.2_572-594_s	572	CCCUUGCAGAAAGUUUAUCCU	AGGAUAAACUUUCUGCAAGGGCA	HC
478	479	NM_002302.2_123-145_s	123	UUCAAACUUGAAUAUUCUUCA	UGAAGAAUAUUCAAGUUUGAAUG	HC
480	481	NM_002302.2_106-128_s	106	UAGCUAGGAAGUAUUCAUUCA	UGAAUGAAUACUUCCUAGCUAUU	HC
482	483	NM_002302.2_571-593_s	571	GCCCUUGCAGAAAGUUUAUCC	GGAUAAACUUUCUGCAAGGGCAA	HC
484	485	NM_002302.2_130-152_s	130	UUGAAUAUUCUUCAAAGAGAG	CUCUCUUUGAAGAAUAUUCAAGU	HC
486	487	NM_002302.2_664-686_s	664	CCAAUGGUCAGAUCUUCAAAA	UUUUGAAGAUCUGACCAUUGGCC	HC
488	489	NM_002302.2_666-688_s	666	AAUGGUCAGAUCUUCAAAAUA	UAUUUUGAAGAUCUGACCAUUGG	HC
490	491	NM_002302.2_421-443_s	421	UGUGGGCCAGGAGAAACCUUA	UAAGGUUUCUCCUGGCCCACAAU	HC

492	493	NM_002302.2_368-390_s	368	GACAUCUUGUGCUCUGCUGGA	UCCAGCAGAGCACAAGAUGUCCA	HC

[1]H: humano; C: macaco; M: ratón; R: rata

Ejemplo 2. Cribado *in vitro* de ARNip de LECT2

Métodos experimentales

Cultivos celulares y transfecciones:

Se transfectaron hepatocitos primarios de macaco (PCH) (Celsis # M003055, lote CBT) añadiendo 14.8µl de Opti-MEM más 0.2µl de Lipofectamine RNAiMax por pocillo (Invitrogen, Carlsbad CA. número de catálogo 13778-150) a 5µl de dúplex de ARNip por pocillo en una placa de 96 pocillos, y se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos. A continuación, se añadieron 80 µl de medio InVitroGRO CP Rat (InVitro Technologies) que contenía ~2 x 10^4 células PCH a la mezcla de ARNip. Las células se incubaron durante 24 horas antes de la purificación del ARN. Se llevaron a cabo experimentos de dosis individuales para una concentración final del dúplex de 10 nM y 0.1n M y se llevaron a cabo experimentos de dosis-respuesta a lo largo de intervalo de dosis de concentración final del dúplex desde 10 nM hasta 36 fM a lo largo de diluciones de 8,6 veces.

Aislamiento de ARN:

El ARN total se aisló utilizando el kit de aislamiento de ARNm DYNABEADS (Invitrogen, componente n.º: 610-12)

Las células se recolectaron y lisaron en 150 µl de tampón de lisis/unión, a continuación se mezclaron durante 5 minutos a 850 rpm utilizando un instrumento Eppendorf Thermomixer (la velocidad de mezclado fue la misma a lo

largo de todo el proceso). Se añadieron diez microlitros de microesferas magnéticas y 80 µl de mezcla de tampón de lisis/unión a una placa de fondo redondo y se mezclaron durante 1 minuto. Las microesferas magnéticas se capturaron utilizando un soporte magnético y se retiró el sobrenadante sin que se alteraran las microesferas. Después de retirar el sobrenadante, las células lisadas se añadieron a las microesferas remanentes y se mezclaron durante 5 minutos. Después de retirar el sobrenadante, las microesferas magnéticas se lavaron 2 veces con 150 µl de tampón de lavado A y se mezclaron durante 1 minuto. Las microesferas se capturaron nuevamente y se retiró el sobrenadante. A continuación, las microesferas se lavaron con 150 µl de tampón de lavado B, se capturaron y se retiró el sobrenadante. A continuación, las microesferas se lavaron con 150 µl de tampón de elución, se capturaron y se retiró el sobrenadante. Se permitió que las microesferas se secaran durante 2 minutos. Después del secado, se añadieron 50 µl de tampón de elución y se mezclaron durante 5 minutos a 70 °C. Las microesferas se capturaron con un imán durante 5 minutos. Se retiraron 40 µl de sobrenadante y se añadieron a otra placa de 96 pocillos.

Síntesis de ADNc:

El ADNc se sintetizó utilizando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad de ABI (Applied Biosystems, Foster City, CA, n.º de catálogo 4368813)

Una mezcla patrón de 2 µl de 10X tampón, 0.8 µl de 25X dNTPs, 2 µl de cebadores aleatorios, 1 µl de transcriptasa inversa, 1 µl de inhibidor de RNasa y 3.2 µl de H_2O por reacción se añadió a 10 µl de ARN total. Se generó ADNc utilizando un ciclador térmico Bio-Rad C-1000 o S-1000 (Hercules, CA) mediante los pasos siguientes: 25 ºC 10 min, 37 ºC 120 min, 85 ºC 5 s y se mantiene a 4 ºC.

PCR a tiempo real:

Se añadieron 2 µl de ADNc a una mezcla patrón que contenía 0.5 µl de una sonda TaqMan de GAPDH de macaco diseñada a medida (F- GCATCCTGGGCTACACTGA (SEQ ID NO: 494), R- TGGGTGTCGCTGTTGAAGTC (SEQ ID NO: 495), Sonda-CCAGGTGGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 496)), 0.5 µl de LECT2 humana (Hs01040204_m1- que reacciona de manera cruzada con Lect2 de macaco) y 5 µl de una mezcla patrón para una sonda Lightcycler 480 (Roche, n.º de catálogo 04887301001) por pocillo en una placa de 384 pocillos (Roche, n.º de catálogo 04887301001). Se llevó a cabo una PCR a tiempo real en un sistema de PCR a tiempo real LightCycler480 (Roche) utilizando el ensayo de ΔΔCt(RQ). Cada dúplex se evaluó en dos transfecciones independientes, y cada

transfección se evaluó por duplicado, a menos que se indique de otro modo en las tablas de resumen.

Para calcular el factor de cambio relativo, los datos a tiempo real se analizaron utilizando el método de ΔΔCt y se normalizaron respecto a los ensayos realizados con células transfectadas con AD-1955 10 nM o células transfectadas con vector vacío. Los valores de CI_{50} se calcularon utilizando un modelo de ajuste de 4 parámetros empleando XLFit y se normalizaron respecto a células transfectadas con AD-1955 o células vírgenes.

Las secuencias de ARNip de LECT2 modificadas y no modificadas se muestran en las Tablas 5 y 6, respectivamente. Las secuencias de ácidos nucleicos proporcionadas en la presente se representan usando nomenclatura estándar (véanse las abreviaturas de la Tabla 1). En algunos casos, se permitieron emparejamientos erróneos entre el dúplex y la diana de ARNm en la primera posición antisentido (último sentido) cuando el par de bases complementarios hebra antisentido:ARNm diana fue un par GC o CG (véanse las Tablas 5 y 6, oligos con etiquetas G21U, G21A, C21A). En estos casos, los dúplex se diseñaron con pares UA o AU en el par primer antisentido:último sentido. De este modo, los dúplex mantuvieron la complementariedad pero tuvieron emparejamientos erróneos con respecto a la diana (U:C, U:G, A:C, or A:G).

Tabla 5. Secuencias de ARNip de LECT2 Modificadas

Nombre del dúplex	Nombre del oligo sentido	Secuencia sentido	SEQ ID NO	Nombre del oligo antisentido	Secuencia antisentido	SEQ ID NO	Posición antisentido en NM_002302
AD-61249	A-122943	UfsasGfcUfaGfgAfAfGfuAfuUfcAfuUfcAfL96	497	A-122944	usGfsaAfuGfaAfuAfcuuCfcUfaGfcUfasusu	498	106-128
AD-61260	A-122931	AfsgsCfuAfgGfaAfGfUfaUfuCfaUfuCfaAfL96	499	A-122932	usUfsgAfaUfgAfaUfacuUfcCfuAfgCfusasu	500	107-129
AD-61254	A-122929	AfsusUfcAfuUfcAfAfAfcUfuGfaAfuAfuUfL96	501	A-122930	asAfsuAfuUfcAfaGfuuuGfaAfuGfaAfusasc	502	118-140
AD-61243	A-122941	UfsusCfaAfaCfuUfGfAfaUfaUfuCfuUfcAfL96	503	A-122942	usGfsaAfgAfaUfaUfucaAfgUfuUfgAfasusg	504	123-145
AD-61261	A-122947	UfsusGfaAfuAfuUfCfUfuCfaAfaGfaGfaGfL96	505	A-122948	csUfscUfcUfuUfgAfagaAfuAfuUfcAfasgsu	506	130-152
AD-61242	A-122925	UfsusGfaAfuAfuUfCfUfuCfaAfaGfaGfaAfL96	507	A-122926	usUfscUfcUfuUfgAfagaAfuAfuUfcAfasgsu	508	130-152_G21A
AD-61248	A-122927	GfscsUfaAfuAfuAfUfGfuGfcUfgGfcAfaGfL96	509	A-122928	csUfsuGfcCfaGfcAfcauAfuAfuUfaGfcscsc	510	263-285
AD-61277	A-122921	GfscsUfaAfuAfuAfUfGfuGfcUfgGfcAfaAfL96	511	A-122922	usUfsuGfcCfaGfcAfcauAfuAfuUfaGfcscsc	512	263-285_G21A
AD-61253	A-122913	CfsasUfgGfcUfgUfGfGfaCfaGfuAfcUfcUfL96	513	A-122914	asGfsaGfuAfcUfgUfccaCfaGfcCfaUfgsgsc	514	314-336
AD-61259	A-122915	UfsgsGfcUfgUfgGfAfCfaGfuAfcUfcUfgCfL96	515	A-122916	gsCfsaGfaGfuAfcUfgucCfaCfaGfcCfasusg	516	316-338
AD-61271	A-122919	UfsgsGfcUfgUfgGfAfCfaGfuAfcUfcUfgAfL96	517	A-122920	usCfsaGfaGfuAfcUfgucCfaCfaGfcCfasusg	518	316-338_C21A
AD-61239	A-122877	GfsgsCfuGfuGfgAfCfAfgUfaCfuCfuGfcUfL96	519	A-122878	asGfscAfgAfgUfaCfuguCfcAfcAfgCfcsasu	520	317-339
AD-61257	A-122883	GfscsUfgUfgGfaCfAfGfuAfcUfcUfgCfuCfL96	521	A-122884	gsAfsgCfaGfaGfuAfcugUfcCfaCfaGfcscsa	522	318-340
AD-61246	A-122895	GfscsUfgUfgGfaCfAfGfuAfcUfcUfgCfuAfL96	523	A-122896	usAfsgCfaGfaGfuAfcugUfcCfaCfaGfcscsa	524	318-340_C21A
AD-61245	A-122879	CfsusGfuGfgAfcAfGfUfaCfuCfuGfcUfcAfL96	525	A-122880	usGfsaGfcAfgAfgUfacuGfuCfcAfcAfgscsc	526	319-341
AD-61268	A-122871	UfsgsUfgGfaCfaGfUfAfcUfcUfgCfuCfaAfL96	527	A-122872	usUfsgAfgCfaGfaGfuacUfgUfcCfaCfasgsc	528	320-342
AD-61251	A-122881	GfsusGfgAfcAfgUfAfCfuCfuGfcUfcAfaAfL96	529	A-122882	usUfsuGfaGfcAfgAfguaCfuGfuCfcAfcsasg	530	321-343

AD-61281	A-122891	UfsgsGfaCfaGfuAfCfUfcUfgCfuCfaAfaGfL96	531	A-122892	csUfsuUfgAfgCfaGfaguAfcUfgUfcCfascsa	532	322-344
AD-61258	A-122899	UfsgsGfaCfaGfuAfCfUfcUfgCfuCfaAfaUfL96	533	A-122900	asUfsuUfgAfgCfaGfaguAfcUfgUfcCfascsa	534	322-344_G21U
AD-61275	A-122889	GfsgsAfcAfgUfaCfUfCfuGfcUfcAfaAfgAfL96	535	A-122890	usCfsuUfuGfaGfcAfgagUfaCfuGfuCfcsasc	536	323-345
AD-61269	A-122887	GfsasCfaGfuAfcUfCfUfgCfuCfaAfaGfaAfL96	537	A-122888	usUfscUfuUfgAfgCfagaGfuAfcUfgUfcscsa	538	324-346
AD-61279	A-122955	UfsgsUfgGfgCfcAfGfGfaGfaAfaCfcUfuAfL96	539	A-122956	usAfsaGfgUfuUfcUfccuGfgCfcCfaCfasasu	540	421-443
AD-61278	A-122937	CfscsAfgGfaGfaAfAfCfcUfuAfuCfaAfaAfL96	541	A-122938	usUfsuUfgAfuAfaGfguuUfcUfcCfuGfgscsc	542	427-449
AD-61247	A-122911	UfsgsUfuCfuAfcAfUfUfaAfgCfcAfaUfuAfL96	543	A-122912	usAfsaUfuGfgCfuUfaauGfuAfgAfaCfasusu	544	504-526
AD-61241	A-122909	GfsusUfcUfaCfaUfUfAfaGfcCfaAfuUfaAfL96	545	A-122910	usUfsaAfuUfgGfcUfuaaUfgUfaGfaAfcsasu	546	505-527
AD-61282	A-122907	UfsusCfuAfcAfuUfAfAfgCfcAfaUfuAfaGfL96	547	A-122908	csUfsuAfaUfuGfgCfuuaAfuGfuAfgAfascsa	548	506-528
AD-61265	A-122917	UfsusCfuAfcAfuUfAfAfgCfcAfaUfuAfaAfL96	549	A-122918	usUfsuAfaUfuGfgCfuuaAfuGfuAfgAfascsa	550	506-528_G21A
AD-61276	A-122905	UfscsUfaCfaUfuAfAfGfcCfaAfuUfaAfgUfL96	551	A-122906	asCfsuUfaAfuUfgGfcuuAfaUfgUfaGfasasc	552	507-529
AD-61250	A-122865	CfsusAfcAfuUfaAfGfCfcAfaUfuAfaGfuAfL96	553	A-122866	usAfscUfuAfaUfuGfgcuUfaAfuGfuAfgsasa	554	508-530
AD-61256	A-122867	UfsasCfaUfuAfaGfCfCfaAfuUfaAfgUfaUfL96	555	A-122868	asUfsaCfuUfaAfuUfggcUfuAfaUfgUfasgsa	556	509-531
AD-61262	A-122869	AfscsAfuUfaAfgCfCfAfaUfuAfaGfuAfuAfL96	557	A-122870	usAfsuAfcUfuAfaUfuggCfuUfaAfuGfusasg	558	510-532
AD-61244	A-122863	CfsasUfuAfaGfcCfAfAfuUfaAfgUfaUfaAfL96	559	A-122864	usUfsaUfaCfuUfaAfuugGfcUfuAfaUfgsusa	560	511-533
AD-61238	A-122861	AfsusUfaAfgCfcAfAfUfuAfaGfuAfuAfaAfL96	561	A-122862	usUfsuAfuAfcUfuAfauuGfgCfuUfaAfusgsu	562	512-534
AD-61280	A-122875	UfsusAfaGfcCfaAfUfUfaAfgUfaUfaAfaGfL96	563	A-122876	csUfsuUfaUfaCfuUfaauUfgGfcUfuAfasusg	564	513-535
AD-61240	A-122893	UfsusAfaGfcCfaAfUfUfaAfgUfaUfaAfaUfL96	565	A-122894	asUfsuUfaUfaCfuUfaauUfgGfcUfuAfasusg	566	513-535_G21U
AD-61263	A-122885	UfsasAfgCfcAfaUfUfAfaGfuAfuAfaAfgGfL96	567	A-122886	csCfsuUfuAfuAfcUfuaaUfuGfgCfuUfasasu	568	514-536
AD-61252	A-122897	UfsasAfgCfcAfaUfUfAfaGfuAfuAfaAfgAfL96	569	A-122898	usCfsuUfuAfuAfcUfuaaUfuGfgCfuUfasasu	570	514-536_G21A
AD-61274	A-122873	AfsasGfcCfaAfuUfAfAfgUfaUfaAfaGfgUfL96	571	A-122874	asCfscUfuUfaUfaCfuuaAfuUfgGfcUfusasa	572	515-537
AD-61270	A-122903	AfsgsCfcAfaUfuAfAfGfuAfuAfaAfgGfuCfL96	573	A-122904	gsAfscCfuUfuAfuAfcuuAfaUfuGfgCfususa	574	516-538

AD-61264	A-122901	AfsgsCfcAfaUfuAfAfGfuAfuAfaAfgGfuAfL96	575	A-122902	usAfscCfuUfuAfuAfcuuAfaUfuGfgCfususa	576	516-538_C21A
AD-61255	A-122945	GfscsCfcUfuGfcAfGfAfaAfgUfuUfaUfcCfL96	577	A-122946	gsGfsaUfaAfaCfuUfucuGfcAfaGfgGfcsasa	578	571-593
AD-61283	A-122923	GfscsCfcUfuGfcAfGfAfaAfgUfuUfaUfcAfL96	579	A-122924	usGfsaUfaAfaCfuUfucuGfcAfaGfgGfcsasa	580	571-593_C21A
AD-61284	A-122939	CfscsCfuUfgCfaGfAfAfaGfuUfuAfuCfcUfL96	581	A-122940	asGfsgAfuAfaAfcUfuucUfgCfaAfgGfgscsa	582	572-594
AD-61267	A-122950	CfscsAfaUfgGfuCfAfGfaUfcUfuCfaAfaAfL96	583	A-122952	usUfsuUfgAfaGfaUfcugAfcCfaUfuGfgscsc	584	664-686
AD-61266	A-122933	CfsasAfuGfgUfcAfGfAfuCfuUfcAfaAfaUfL96	585	A-122934	asUfsuUfuGfaAfgAfucuGfaCfcAfuUfgsgsc	586	665-687
AD-61273	A-122953	AfsasUfgGfuCfaGfAfUfcUfuCfaAfaAfuAfL96	587	A-122954	usAfsuUfuUfgAfaGfaucUfgAfcCfaUfusgsg	588	666-688
AD-61272	A-122935	UfsgsGfuCfaGfaUfCfUfuCfaAfaAfuAfaAfL96	589	A-122936	usUfsuAfuUfuUfgAfagaUfcUfgAfcCfasusu	590	668-690

Tabla 6. Secuencias de ARNip de LECT2 No Modificadas

Nombre del dúplex	Nombre del oligo sentido	Secuencia sentido	SEQ ID NO	Posición sentido en NM_002302	Nombre del oligo antisentido	Secuencia antisentido	SEQ ID NO	Posición antisentido en NM_002302
AD-61249UM	A-122943	UAGCUAGGAAGUAUUCAUUCA	591	108-128	A-122944	UGAAUGAAUACUUCCUAGCUAUU	592	106-128
AD-61260 UM	A-122931	AGCUAGGAAGUAUUCAUUCAA	593	109-129	A-122932	UUGAAUGAAUACUUCCUAGCUAU	594	107-129
AD-61254 UM	A-122929	AUUCAUUCAAACUUGAAUAUU	595	120-140	A-122930	AAUAUUCAAGUUUGAAUGAAUAC	596	118-140
AD-61243 UM	A-122941	UUCAAACUUGAAUAUUCUUCA	597	125-145	A-122942	UGAAGAAUAUUCAAGUUUGAAUG	598	123-145
AD-61261 UM	A-122947	UUGAAUAUUCUUCAAAGAGAG	599	132-152	A-122948	CUCUCUUUGAAGAAUAUUCAAGU	600	130-152
AD-61242 UM	A-122925	UUGAAUAUUCUUCAAAGAGAA	601	132-152_G21A	A-122926	UUCUCUUUGAAGAAUAUUCAAGU	602	130-152_G21A
AD-61248 UM	A-122927	GCUAAUAUAUGUGCUGGCAAG	603	265-285	A-122928	CUUGCCAGCACAUAUAUUAGCCC	604	263-285
AD-61277 UM	A-122921	GCUAAUAUAUGUGCUGGCAAA	605	265-285_G21A	A-122922	UUUGCCAGCACAUAUAUUAGCCC	606	263-285_G21A
AD-61253 UM	A-122913	CAUGGCUGUGGACAGUACUCU	607	316-336	A-122914	AGAGUACUGUCCACAGCCAUGGC	608	314-336
AD-61259 UM	A-122915	UGGCUGUGGACAGUACUCUGC	609	318-338	A-122916	GCAGAGUACUGUCCACAGCCAUG	610	316-338
AD-61271 UM	A-122919	UGGCUGUGGACAGUACUCUGA	611	318-338_C21A	A-122920	UCAGAGUACUGUCCACAGCCAUG	612	316-338_C21A
AD-61239 UM	A-122877	GGCUGUGGACAGUACUCUGCU	613	319-339	A-122878	AGCAGAGUACUGUCCACAGCCAU	614	317-339
AD-61257 UM	A-122883	GCUGUGGACAGUACUCUGCUC	615	320-340	A-122884	GAGCAGAGUACUGUCCACAGCCA	616	318-340
AD-61246 UM	A-122895	GCUGUGGACAGUACUCUGCUA	617	320-340_C21A	A-122896	UAGCAGAGUACUGUCCACAGCCA	618	318-340_C21A
AD-61245 UM	A-122879	CUGUGGACAGUACUCUGCUCA	619	321-341	A-122880	UGAGCAGAGUACUGUCCACAGCC	620	319-341
AD-61268 UM	A-122871	UGUGGACAGUACUCUGCUCAA	621	322-342	A-122872	UUGAGCAGAGUACUGUCCACAGC	622	320-342

AD-61251 UM	A-122881	GUGGACAGUACUCUGCUCAAA	623	323-343	A-122882	UUUGAGCAGAGUACUGUCCACAG	624	321-343
AD-61281 UM	A-122891	UGGACAGUACUCUGCUCAAAG	625	324-344	A-122892	CUUUGAGCAGAGUACUGUCCACA	626	322-344
AD-61258 UM	A-122899	UGGACAGUACUCUGCUCAAAU	627	324-344_G21U	A-122900	AUUUGAGCAGAGUACUGUCCACA	628	322-344_G21U
AD-61275 UM	A-122889	GGACAGUACUCUGCUCAAAGA	629	325-345	A-122890	UCUUUGAGCAGAGUACUGUCCAC	630	323-345
AD-61269 UM	A-122887	GACAGUACUCUGCUCAAAGAA	631	326-346	A-122888	UUCUUUGAGCAGAGUACUGUCCA	632	324-346
AD-61279 UM	A-122955	UGUGGGCCAGGAGAAACCUUA	633	423-443	A-122956	UAAGGUUUCUCCUGGCCCACAAU	634	421-443
AD-61278 UM	A-122937	CCAGGAGAAACCUUAUCAAAA	635	429-449	A-122938	UUUUGAUAAGGUUUCUCCUGGCC	636	427-449
AD-61247 UM	A-122911	UGUUCUACAUUAAGCCAAUUA	637	506-526	A-122912	UAAUUGGCUUAAUGUAGAACAUU	638	504-526
AD-61241 UM	A-122909	GUUCUACAUUAAGCCAAUUAA	639	507-527	A-122910	UUAAUUGGCUUAAUGUAGAACAU	640	505-527
AD-61282 UM	A-122907	UUCUACAUUAAGCCAAUUAAG	641	508-528	A-122908	CUUAAUUGGCUUAAUGUAGAACA	642	506-528
AD-61265 UM	A-122917	UUCUACAUUAAGCCAAUUAAA	643	508-528_G21A	A-122918	UUUAAUUGGCUUAAUGUAGAACA	644	506-528_G21A
AD-61276 UM	A-122905	UCUACAUUAAGCCAAUUAAGU	645	509-529	A-122906	ACUUAAUUGGCUUAAUGUAGAAC	646	507-529
AD-61250 UM	A-122865	CUACAUUAAGCCAAUUAAGUA	647	510-530	A-122866	UACUUAAUUGGCUUAAUGUAGAA	648	508-530
AD-61256 UM	A-122867	UACAUUAAGCCAAUUAAGUAU	649	511-531	A-122868	AUACUUAAUUGGCUUAAUGUAGA	650	509-531
AD-61262 UM	A-122869	ACAUUAAGCCAAUUAAGUAUA	651	512-532	A-122870	UAUACUUAAUUGGCUUAAUGUAG	652	510-532
AD-61244 UM	A-122863	CAUUAAGCCAAUUAAGUAUAA	653	513-533	A-122864	UUAUACUUAAUUGGCUUAAUGUA	654	511-533
AD-61238 UM	A-122861	AUUAAGCCAAUUAAGUAUAAA	655	514-534	A-122862	UUUAUACUUAAUUGGCUUAAUGU	656	512-534
AD-61280 UM	A-122875	UUAAGCCAAUUAAGUAUAAAG	657	515-535	A-122876	CUUUAUACUUAAUUGGCUUAAUG	658	513-535
AD-61240 UM	A-122893	UUAAGCCAAUUAAGUAUAAAU	659	515-535_G21U	A-122894	AUUUAUACUUAAUUGGCUUAAUG	660	513-535_G21U
AD-61263 UM	A-122885	UAAGCCAAUUAAGUAUAAAGG	661	516-536	A-122886	CCUUUAUACUUAAUUGGCUUAAU	662	514-536
AD-61252 UM	A-122897	UAAGCCAAUUAAGUAUAAAGA	663	516-536_G21A	A-122898	UCUUUAUACUUAAUUGGCUUAAU	664	514-

								536_G21A
AD-61274 UM	A-122873	AAGCCAAUUAAGUAUAAAGGU	665	517-537	A-122874	ACCUUUAUACUUAAUUGGCUUAA	666	515-537
AD-61270 UM	A-122903	AGCCAAUUAAGUAUAAAGGUC	667	518-538	A-122904	GACCUUUAUACUUAAUUGGCUUA	668	516-538
AD-61264 UM	A-122901	AGCCAAUUAAGUAUAAAGGUA	669	518-538_C21A	A-122902	UACCUUUAUACUUAAUUGGCUUA	670	516-538_C21A
AD-61255 UM	A-122945	GCCCUUGCAGAAAGUUUAUCC	671	573-593	A-122946	GGAUAAACUUUCUGCAAGGGCAA	672	571-593
AD-61283 UM	A-122923	GCCCUUGCAGAAAGUUUAUCA	673	573-593_C21A	A-122924	UGAUAAACUUUCUGCAAGGGCAA	674	571-593_C21A
AD-61284 UM	A-122939	CCCUUGCAGAAAGUUUAUCCU	675	574-594	A-122940	AGGAUAAACUUUCUGCAAGGGCA	676	572-594
AD-61267 UM	A-122950	CCAAUGGUCAGAUCUUCAAAA	677	666-686	A-122952	UUUUGAAGAUCUGACCAUUGGCC	678	664-686
AD-61266 UM	A-122933	CAAUGGUCAGAUCUUCAAAAU	679	667-687	A-122934	AUUUUGAAGAUCUGACCAUUGGC	680	665-687
AD-61273 UM	A-122953	AAUGGUCAGAUCUUCAAAAUA	681	668-688	A-122954	UAUUUUGAAGAUCUGACCAUUGG	682	666-688
AD-61272 UM	A-122935	UGGUCAGAUCUUCAAAAUAAA	683	670-690	A-122936	UUUAUUUUGAAGAUCUGACCAUU	684	668-690

Resultados

Los resultados del cribado de una sola dosis en hepatocitos de mono primarios se muestran en la Tabla 7. Los experimentos de dosis única se llevaron a cabo a 10 nM y 0.1 nM de concentración de dúplex final, y los datos se expresan como porcentaje de mensaje que queda con respecto a control no seleccionador de diana AD-1955.

Tabla 7. Cribado de Dosis Única de ARNip de LECT2 en Hepatocitos Primarios de Mono

ID del dúplex	10nM_AVG	0.1nM_AVG	10nM_STDEV	0.1nM_STDEV
AD-61278	1.8	22.3	0.78	6.56
AD-61268	4.6	43.2	2.72	9.01
AD-61251	4.8	41.0	1.50	9.73
AD-61260	5.6	48.9	0.40	4.98
AD-61258	5.9	50.8	0.70	0.29
AD-61277	6.2	33.4	0.14	8.56
AD-61241	6.3	32.3	4.28	8.26
AD-61242	6.8	64.2	0.58	14.00
AD-61273	7.0	18.0	0.46	0.16
AD-61243	7.0	34.9	3.27	6.84
AD-61267	7.2	20.1	1.52	0.31
AD-61266	7.3	20.0	1.12	0.57
AD-61256	7.3	18.6	1.44	2.53
AD-61284	7.6	31.0	1.42	0.58
AD-61246	7.6	74.2	0.62	8.28
AD-61272	7.8	15.3	0.17	0.99
AD-61244	7.9	20.5	0.14	3.97
AD-61275	8.3	63.8	3.06	5.57
AD-61265	9.8	34.4	1.42	0.65
AD-61281	10.2	48.2	0.28	12.35
AD-61254	10.4	63.6	1.65	15.68

AD-61257	10.5	66.5	1.36	16.73
AD-61238	11.0	42.2	1.69	2.24
AD-61240	11.6	30.7	0.31	2.28
AD-61250	11.8	57.0	1.24	15.15
AD-61262	13.7	57.7	2.37	10.92
AD-61249	13.8	74.7	0.57	1.53
AD-61283	14.3	59.2	ND	13.47
AD-61282	14.7	44.6	0.11	1.13
AD-61261	15.6	58.0	0.65	25.10
AD-61264	16.2	66.7	0.75	2.89
AD-61239	16.6	78.5	6.08	4.68
AD-61274	17.9	66.9	3.54	13.94
AD-61253	18.8	90.1	0.23	4.49
AD-61280	18.8	56.8	4.16	9.66
AD-61276	21.0	71.0	0.87	3.88
AD-61269	21.1	85.8	2.52	10.42
AD-61279	21.5	67.6	0.58	1.60
AD-61255	22.1	87.0	4.14	1.78
AD-61248	25.7	85.8	2.95	9.58
AD-61270	27.4	77.8	3.94	12.22
AD-61252	28.1	82.3	0.89	0.07
AD-61245	41.9	90.1	6.65	3.46
AD-61271	46.5	82.5	4.44	26.55
AD-61263	53.2	82.4	4.04	11.61
AD-61247	56.7	93.6	1.25	4.20
AD-61259	78.1	90.2	0.96	7.14
AD-1955	100.6		11.1	

Un subconjunto de dúples de ARNip de LECT2 ensayados en el cribado de dosis única se ensayaron adicionalmente en un cribado de respuesta a la dosis en hepatocitos primarios de mono. Los resultados se muestran en la Tabla 8. Los experimentos de respuesta a la dosis se llevaron a cabo a lo largo de un intervalo de dosis de 10 nM a 36 fM de

concentración de dúplex final. Los datos se expresan como valores de CI50.

Tabla 8. Cribado de Respuesta a la Dosis de ARNip de LECT2 en Hepatocitos de Mono Primarios

ID del dúplex	IC50 (nM)
AD-61272	0.0024
AD-61273	0.0006
AD-61266	0.003
AD-61267	0.0026
AD-61278	0.0124
AD-61284	0.0522
AD-61240	0.0084
AD-61251	0.0621
AD-61268	0.117
AD-61256	0.0163
AD-61244	0.0165

Ejemplo 3. Paseo del Gen de ARNip de LECT2

Métodos Experimentales

Bioinformática:

Un conjunto de 93 ARNip solapantes que seleccionan al gen LECT2 humano como diana (NCBI refseqID NM_002302.2; NCBI Gen ID 3950 “quimiotaxina 2’’ derivada de célula leucocítica”) se diseñó usando las escrituras R y Python personales. El ARNm REFSEQ de LECT2 tiene una longitud de 1077 bases.

Cribado *in vitro*

Cultivo celular y transfecciones:

Hepatocitos de macaco primarios (PCHs, Celsis # M003055, lot CBT) se transfectaron añadiendo 14.8µl de Opti-MEM más 0.2µl de Lipofectamine RNAiMax por pocillo (Invitrogen, Carlsbad CA. número de catálogo 13778-150) a 5µl de dúplex de ARNip por pocillo en una placa de 96 pocillos, y se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos. Después se añadieron a la mezcla de ARNip 80ul de medio E Williams libre de rojo fenol (Life Technologies #A1217601) que contiene ~2 $x10^4$ células PCH. Las células se incubaron durante 24 horas antes de la purificación del ARN.

Se llevaron a cabo experimentos de dosis única 10 nM.

El ARN total se aisló utilizando el kit de aislamiento de ARNm DYNABEADS (Invitrogen, componente n.º: 610-12).

Las células se recolectaron y lisaron en 150 µl de tampón de lisis/unión, a continuación se mezclaron durante 5 minutos a 850 rpm utilizando un instrumento Eppendorf Thermomixer (la velocidad de mezclado fue la misma a lo largo de todo el proceso). Se añadieron diez microlitros de microesferas magnéticas y 80 µl de mezcla de tampón de lisis/unión a una placa de fondo redondo y se mezclaron durante 1 minuto. Las microesferas magnéticas se capturaron utilizando un soporte magnético y se retiró el sobrenadante sin que se alteraran las microesferas. Después de retirar el sobrenadante, las células lisadas se añadieron a las

microesferas remanentes y se mezclaron durante 5 minutos. Después de retirar el sobrenadante, las microesferas magnéticas se lavaron 2 veces con 150 µl de tampón de lavado A y se mezclaron durante 1 minuto. Las microesferas se capturaron de nuevo y se retiró el sobrenadante. A continuación, las microesferas se lavaron con 150 µl de tampón de lavado B, se capturaron y se retiró el sobrenadante. A continuación, las microesferas se lavaron con 150 µl de tampón de elución, se capturaron y se retiró el sobrenadante. Se permitió que las microesferas se secaran durante 2 minutos. Después del secado, se añadieron 50 µl de tampón de elución y se mezclaron durante 5 minutos a 70 °C. Las microesferas se capturaron con un imán durante 5 minutos. Se retiraron 40 µl de sobrenadante y se añadieron a otra placa de 96 pocillos.

Síntesis de ADNc:

El ADNc se sintetizó utilizando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad de ABI (Applied Biosystems, Foster City, CA, n.º de catálogo 4368813).

Se añadió una mezcla patrón de 2 µl de 10X tampón, 0.8 µl de 25X dNTPs, 2 µl de cebadores aleatorios, 1 µl de transcriptasa inversa, 1 µl de inhibidor de RNasa y 3.2 µl de H_2O por reacción a 10 µl de ARN total. El ADNc se generó utilizando un ciclador térmico Bio-Rad C-1000 o S-1000

(Hercules, CA) mediante los pasos siguientes: 25 ºC 10 minutos, 37 ºC 120 minutos, 85 ºC 5 segundos y se mantiene a 4 ºC.

PCR a tiempo real:

Se añadieron 2 µl de ADNc a una mezcla patrón que contiene 0.5 µl de sonda TaqMan de GAPDH de macaco diseñada de forma personal (F- GCATCCTGGGCTACACTGA (SEQ ID NO: 494), R- TGGGTGTCGCTGTTGAAGTC (SEQ ID NO: 495), sonda-CCAGGTGGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 496)), 0.5µl de Lect2 humana (Hs01040204_m1- que reacciona de forma cruzada con Lect2 de macaco) y 5µl de mezcla patrón de sonda Lightcycler 480 (número de catálogo de Roche 04887301001) por pocillo en una placa de 384 pocillos (número de catálogo de Roche 04887301001). La PCR a tiempo real se realizó en un sistema de PCR a tiempo real LightCycler480 (Roche) usando el ensayo de ΔΔCt(RQ). Cada dúplex se ensayó en dos transfecciones independientes, y cada transfección se evaluó por duplicado, excepto que se señale de otro modo en las tablas resumen. Para calcular el cambio de veces relativo, los datos de tiempo real se analizaron usando el método de ΔΔCt y se normalizaron en ensayos llevados a cabo con células transfectadas con 10nM de AD-1955, o células transfectadas con vector vacío.

Para calcular el factor de cambio relativo, los datos a tiempo real se analizaron utilizando el método de ΔΔCt y se normalizaron respecto a los ensayos realizados con células transfectadas con AD-1955 10 nM o células transfectadas con vector vacío.

Las secuencias de ARNip de LECT2 modificadas y no modificadas se muestran en las Tablas 9 y 10, respectivamente. Las secuencias de ácidos nucleicos proporcionadas en la presente se representan usando la nomenclatura estándar (véanse las abreviaturas de la Tabla 1).

Tabla 9. Secuencias de ARNip de LECT2 Modificadas

Diana	Nombre del dúplex	Nombre del oligo sentido	Secuencia del oligo sentido	SEQ ID NO	Nombre del oligo antisentido	Secuencia del oligo antisentido	SEQ ID NO
LECT2	AD-65819.1	A-131907.1	GAAUAUUAGAACUUGACUUdTdT	690	A-131908.1	AAGUCAAGUUCUAAUAUUCdTdT	691
LECT2	AD-65825.1	A-131909.1	AACUUGACUUGCUCCAUCCdTdT	692	A-131910.1	GGAUGGAGCAAGUCAAGUUdTdT	693
LECT2	AD-65831.1	A-131911.1	CCAUCCUCUUAAACUUUUUdTdT	694	A-131912.1	AAAAAGUUUAAGAGGAUGGdTdT	695
LECT2	AD-65837.1	A-131913.1	UAAACUUUUUGUGUCUCACdTdT	696	A-131914.1	GUGAGACACAAAAAGUUUAdTdT	697
LECT2	AD-65843.1	A-131915.1	GUCUCACACUAAAGAAAUGdTdT	698	A-131916.1	CAUUUCUUUAGUGUGAGACdTdT	699
LECT2	AD-65849.1	A-131917.1	AAAGAAAUGAGAGAUGCAGdTdT	700	A-131918.1	CUGCAUCUCUCAUUUCUUUdTdT	701
LECT2	AD-65855.1	A-131919.1	AUGCAGAAUUCUAAGGCUAdTdT	702	A-131920.1	UAGCCUUAGAAUUCUGCAUdTdT	703
LECT2	AD-65861.1	A-131921.1	UCUAAGGCUAAAUAGCUAGdTdT	704	A-131922.1	CUAGCUAUUUAGCCUUAGAdTdT	705
LECT2	AD-65820.1	A-131923.1	AUAGCUAGGAAGUAUUCAUdTdT	706	A-131924.1	AUGAAUACUUCCUAGCUAUdTdT	707
LECT2	AD-65826.1	A-131925.1	AUUCAUUCAAACUUGAAUAdTdT	708	A-131926.1	UAUUCAAGUUUGAAUGAAUdTdT	709
LECT2	AD-65832.1	A-131927.1	CUUGAAUAUUCUUCAAAGAdTdT	710	A-131928.1	UCUUUGAAGAAUAUUCAAGdTdT	711
LECT2	AD-65838.1	A-131929.1	CUUCAAAGAGAGUGUGGGGdTdT	712	A-131930.1	CCCCACACUCUCUUUGAAGdTdT	713
LECT2	AD-65844.1	A-131931.1	GUGUGGGGGCAACUCUAAUdTdT	714	A-131932.1	AUUAGAGUUGCCCCCACACdTdT	715
LECT2	AD-65850.1	A-131933.1	AACUCUAAUCAGAGGAAGAdTdT	716	A-131934.1	UCUUCCUCUGAUUAGAGUUdTdT	717
LECT2	AD-65856.1	A-131935.1	AGGAAGAAACUAAAGGAAGdTdT	718	A-131936.1	CUUCCUUUAGUUUCUUCCUdTdT	719
LECT2	AD-65862.1	A-131937.1	UAAAGGAAGUAAAACCAGAdTdT	720	A-131938.1	UCUGGUUUUACUUCCUUUAdTdT	721
LECT2	AD-65821.1	A-131939.1	AAACCAGAUGUUUUCCACCdTdT	722	A-131940.1	GGUGGAAAACAUCUGGUUUdTdT	723
LECT2	AD-65827.1	A-131941.1	UCCACCAAAGCCCUCCUUUdTdT	724	A-131942.1	AAAGGAGGGCUUUGGUGGAdTdT	725
LECT2	AD-65833.1	A-131943.1	CCUCCUUUUGGCUGGUCUGdTdT	726	A-131944.1	CAGACCAGCCAAAAGGAGGdTdT	727
LECT2	AD-65839.1	A-131945.1	GGCUGGUCUGAUUUCUACCdTdT	728	A-131946.1	GGUAGAAAUCAGACCAGCCdTdT	729
LECT2	AD-65845.1	A-131947.1	UUUCUACCGCACUGGCAGGdTdT	730	A-131948.1	CCUGCCAGUGCGGUAGAAAdTdT	731
LECT2	AD-65851.1	A-131949.1	GGCAGGGCCAUGGGCUAAUdTdT	732	A-131950.1	AUUAGCCCAUGGCCCUGCCdTdT	733
LECT2	AD-65857.1	A-131951.1	GGGCUAAUAUAUGUGCUGGdTdT	734	A-131952.1	CCAGCACAUAUAUUAGCCCdTdT	735
LECT2	AD-65863.1	A-131953.1	AUGUGCUGGCAAGUCUUCCdTdT	736	A-131954.1	GGAAGACUUGCCAGCACAUdTdT	737
LECT2	AD-65822.1	A-131955.1	AAGUCUUCCAAUGAGAUCCdTdT	738	A-131956.1	GGAUCUCAUUGGAAGACUUdTdT	739
LECT2	AD-65828.1	A-131957.1	AGAUCCGGACGUGUGACCGdTdT	740	A-131958.1	CGGUCACACGUCCGGAUCUdTdT	741
LECT2	AD-65834.1	A-131959.1	GUGUGACCGCCAUGGCUGUdTdT	742	A-131960.1	ACAGCCAUGGCGGUCACACdTdT	743
LECT2	AD-65840.1	A-131961.1	AUGGCUGUGGACAGUACUCdTdT	744	A-131962.1	GAGUACUGUCCACAGCCAUdTdT	745

LECT2	AD-65846.1	A-131963.1	AGUACUCUGCUCAAAGAAGdTdT	746	A-131964.1	CUUCUUUGAGCAGAGUACUdTdT	747
LECT2	AD-65852.1	A-131965.1	CAAAGAAGUCAGAGGCCUCdTdT	748	A-131966.1	GAGGCCUCUGACUUCUUUGdTdT	749
LECT2	AD-65858.1	A-131967.1	CAGAGGCCUCACCAGGGUGdTdT	750	A-131968.1	CACCCUGGUGAGGCCUCUGdTdT	751
LECT2	AD-65864.1	A-131969.1	CCAGGGUGUGGACAUCUUGdTdT	752	A-131970.1	CAAGAUGUCCACACCCUGGdTdT	753
LECT2	AD-65823.1	A-131971.1	ACAUCUUGUGCUCUGCUGGdTdT	754	A-131972.1	CCAGCAGAGCACAAGAUGUdTdT	755
LECT2	AD-65829.1	A-131973.1	CUGCUGGAUCUACUGUGUAdTdT	756	A-131974.1	UACACAGUAGAUCCAGCAGdTdT	757
LECT2	AD-65835.1	A-131975.1	CUGUGUACGCACCAUUCACdTdT	758	A-131976.1	GUGAAUGGUGCGUACACAGdTdT	759
LECT2	AD-65841.1	A-131977.1	CCAUUCACUGGAAUGAUUGdTdT	760	A-131978.1	CAAUCAUUCCAGUGAAUGGdTdT	761
LECT2	AD-65847.1	A-131979.1	AAUGAUUGUGGGCCAGGAGdTdT	762	A-131980.1	CUCCUGGCCCACAAUCAUUdTdT	763
LECT2	AD-65853.1	A-131981.1	GGGCCAGGAGAAACCUUAUdTdT	764	A-131982.1	AUAAGGUUUCUCCUGGCCCdTdT	765
LECT2	AD-65859.1	A-131983.1	CCUUAUCAAAACAAGAAUGdTdT	766	A-131984.1	CAUUCUUGUUUUGAUAAGGdTdT	767
LECT2	AD-65865.1	A-131985.1	CAAGAAUGCUAUCAAUAAUdTdT	768	A-131986.1	AUUAUUGAUAGCAUUCUUGdTdT	769
LECT2	AD-65824.1	A-131987.1	AUCAAUAAUGGUGUUCGAAdTdT	770	A-131988.1	UUCGAACACCAUUAUUGAUdTdT	771
LECT2	AD-65830.1	A-131989.1	GUUCGAAUAUCUGGAAGAGdTdT	772	A-131990.1	CUCUUCCAGAUAUUCGAACdTdT	773
LECT2	AD-65836.1	A-131991.1	UCUGGAAGAGGUUUUUGUGdTdT	774	A-131992.1	CACAAAAACCUCUUCCAGAdTdT	775
LECT2	AD-65842.1	A-131993.1	UUUUUGUGUCAAAAUGUUCdTdT	776	A-131994.1	GAACAUUUUGACACAAAAAdTdT	777
LECT2	AD-65848.1	A-131995.1	AUGUUCUACAUUAAGCCAAdTdT	778	A-131996.1	UUGGCUUAAUGUAGAACAUdTdT	779
LECT2	AD-65854.1	A-131997.1	UAAGCCAAUUAAGUAUAAAdTdT	780	A-131998.1	UUUAUACUUAAUUGGCUUAdTdT	781
LECT2	AD-65860.1	A-131999.1	AAGUAUAAAGGUCCUAUUAdTdT	782	A-132000.1	UAAUAGGACCUUUAUACUUdTdT	783
LECT2	AD-65866.1	A-132001.1	CCUAUUAAGAAGGGAGAAAdTdT	784	A-132002.1	UUUCUCCCUUCUUAAUAGGdTdT	785
LECT2	AD-65872.1	A-132003.1	AGGGAGAAAAACUUGGAACdTdT	786	A-132004.1	GUUCCAAGUUUUUCUCCCUdTdT	787
LECT2	AD-65878.1	A-132005.1	CUUGGAACUCUAUUGCCCUdTdT	788	A-132006.1	AGGGCAAUAGAGUUCCAAGdTdT	789
LECT2	AD-65884.1	A-132007.1	UUGCCCUUGCAGAAAGUUUdTdT	790	A-132008.1	AAACUUUCUGCAAGGGCAAdTdT	791
LECT2	AD-65890.1	A-132009.1	AGAAAGUUUAUCCUGGCAUdTdT	792	A-132010.1	AUGCCAGGAUAAACUUUCUdTdT	793
LECT2	AD-65896.1	A-132011.1	CCUGGCAUACAAUCGCAUGdTdT	794	A-132012.1	CAUGCGAUUGUAUGCCAGGdTdT	795
LECT2	AD-65902.1	A-132013.1	AUCGCAUGUGCACAUUGAAdTdT	796	A-132014.1	UUCAAUGUGCACAUGCGAUdTdT	797
LECT2	AD-65907.1	A-132015.1	CAUUGAAAACUGUGACUCGdTdT	798	A-132016.1	CGAGUCACAGUUUUCAAUGdTdT	799
LECT2	AD-65867.1	A-132017.1	GUGACUCGAGUGACCCUACdTdT	800	A-132018.1	GUAGGGUCACUCGAGUCACdTdT	801
LECT2	AD-65873.1	A-132019.1	UGACCCUACUGCAUACCUGdTdT	802	A-132020.1	CAGGUAUGCAGUAGGGUCAdTdT	803
LECT2	AD-65879.1	A-132021.1	CAUACCUGUAAAUCGAAGGdTdT	804	A-132022.1	CCUUCGAUUUACAGGUAUGdTdT	805
LECT2	AD-65891.1	A-132025.1	UGGUCAGAUCUUCAAAAUAdTdT	806	A-132026.1	UAUUUUGAAGAUCUGACCAdTdT	807
LECT2	AD-65897.1	A-132027.1	CUUCAAAAUAAAAAGUCAUdTdT	808	A-132028.1	AUGACUUUUUAUUUUGAAGdTdT	809
LECT2	AD-65903.1	A-132029.1	AAGUCAUCUUAAAAACCUGdTdT	810	A-132030.1	CAGGUUUUUAAGAUGACUUdTdT	811

LECT2	AD-65908.1	A-132031.1	AAAACCUGGAUGCAUACCCdTdT	812	A-132032.1	GGGUAUGCAUCCAGGUUUUdTdT	813
LECT2	AD-65868.1	A-132033.1	GCAUACCCUUCUCUUCAAGdTdT	814	A-132034.1	CUUGAAGAGAAGGGUAUGCdTdT	815
LECT2	AD-65874.1	A-132035.1	CUUCAAGAAAUUUGUGUUCdTdT	816	A-132036.1	GAACACAAAUUUCUUGAAGdTdT	817
LECT2	AD-65880.1	A-132037.1	UUGUGUUCACAAAGGAAAAdTdT	818	A-132038.1	UUUUCCUUUGUGAACACAAdTdT	819
LECT2	AD-65886.1	A-132039.1	AAGGAAAAAUGCAUGAAGGdTdT	820	A-132040.1	CCUUCAUGCAUUUUUCCUUdTdT	821
LECT2	AD-65892.1	A-132041.1	UGCAUGAAGGGAUGGAUACdTdT	822	A-132042.1	GUAUCCAUCCCUUCAUGCAdTdT	823
LECT2	AD-65898.1	A-132043.1	UGGAUACCCCAUUUUCCAUdTdT	824	A-132044.1	AUGGAAAAUGGGGUAUCCAdTdT	825
LECT2	AD-65904.1	A-132045.1	UUUCCAUGACAUGAUUAUUdTdT	826	A-132046.1	AAUAAUCAUGUCAUGGAAAdTdT	827
LECT2	AD-65909.1	A-132047.1	CAUGAUUAUUACACAUUGCdTdT	828	A-132048.1	GCAAUGUGUAAUAAUCAUGdTdT	829
LECT2	AD-65869.1	A-132049.1	CACAUUGCAUGCCUGUAUCdTdT	830	A-132050.1	GAUACAGGCAUGCAAUGUGdTdT	831
LECT2	AD-65875.1	A-132051.1	CCUGUAUCAAAACAUCUCAdTdT	832	A-132052.1	UGAGAUGUUUUGAUACAGGdTdT	833
LECT2	AD-65881.1	A-132053.1	CAUCUCACGUACCUCAUAAdTdT	834	A-132054.1	UUAUGAGGUACGUGAGAUGdTdT	835
LECT2	AD-65887.1	A-132055.1	CCUCAUAAACAUAUACACCdTdT	836	A-132056.1	GGUGUAUAUGUUUAUGAGGdTdT	837
LECT2	AD-65893.1	A-132057.1	AUACACCUAUGUACCCACAdTdT	838	A-132058.1	UGUGGGUACAUAGGUGUAUdTdT	839
LECT2	AD-65899.1	A-132059.1	GUACCCACAAAAAUUUUUUdTdT	840	A-132060.1	AAAAAAUUUUUGUGGGUACdTdT	841
LECT2	AD-65905.1	A-132061.1	UAAAAAAAGGAAAUUUGAGdTdT	842	A-132062.1	CUCAAAUUUCCUUUUUUUAdTdT	843
LECT2	AD-65910.1	A-132063.1	AAUUUGAGUUUAAAUAGAAdTdT	844	A-132064.1	UUCUAUUUAAACUCAAAUUdTdT	845
LECT2	AD-65870.1	A-132065.1	AUAGAAACAUGAUAAAUGCdTdT	846	A-132066.1	GCAUUUAUCAUGUUUCUAUdTdT	847
LECT2	AD-65876.1	A-132067.1	GAUAAAUGCAAGAAAGAAAdTdT	848	A-132068.1	UUUCUUUCUUGCAUUUAUCdTdT	849
LECT2	AD-65882.1	A-132069.1	GAAAGAAAACAUUUUGAUUdTdT	850	A-132070.1	AAUCAAAAUGUUUUCUUUCdTdT	851
LECT2	AD-65894.1	A-132073.1	ACUCAUUGUCACUCUGAUGdTdT	852	A-132074.1	CAUCAGAGUGACAAUGAGUdTdT	853
LECT2	AD-65900.1	A-132075.1	CUCUGAUGUUCAUGUGAACdTdT	854	A-132076.1	GUUCACAUGAACAUCAGAGdTdT	855
LECT2	AD-65906.1	A-132077.1	CAUGUGAACUGGUUGCUUCdTdT	856	A-132078.1	GAAGCAACCAGUUCACAUGdTdT	857
LECT2	AD-65911.1	A-132079.1	GUUGCUUCGGGCUCUUUGAdTdT	858	A-132080.1	UCAAAGAGCCCGAAGCAACdTdT	859
LECT2	AD-65871.1	A-132081.1	UCUUUGAUCUGUCACCUAUdTdT	860	A-132082.1	AUAGGUGACAGAUCAAAGAdTdT	861
LECT2	AD-65877.1	A-132083.1	CACCUAUGGAAUCUGAGUGdTdT	862	A-132084.1	CACUCAGAUUCCAUAGGUGdTdT	863
LECT2	AD-65883.1	A-132085.1	AAUCUGAGUGGUUUUAUUUdTdT	864	A-132086.1	AAAUAAAACCACUCAGAUUdTdT	865
LECT2	AD-65889.1	A-132087.1	UUUUUUAGAUUUCUCAGUCdTdT	866	A-132088.1	GACUGAGAAAUCUAAAAAAdTdT	867
LECT2	AD-65895.1	A-132089.1	CUCAGUCCCAAAGAUCUAAdTdT	868	A-132090.1	UUAGAUCUUUGGGACUGAGdTdT	869
LECT2	AD-65901.1	A-132091.1	GAUCUAAGAUAAAUAAACAdTdT	870	A-132092.1	UGUUUAUUUAUCUUAGAUCdTdT	871

Tabla 10. Secuencias de ARNip de LECT2 No Modificadas

Diana	Nombre del dúplex	Nombre del oligo sentido	Secuencia sentido	SEQ ID NO	Posición en NM_002302.2	Nombre del oligo antisentido	Secuencia antisentido	SEQ ID NO	Posición en NM_002302.2
LECT2	AD-65819.1	A-131907.1	GAAUAUUAGAACUUGACUU	872	011-29	A-131908.1	AAGUCAAGUUCUAAUAUUC	873	11-29
LECT2	AD-65825.1	A-131909.1	AACUUGACUUGCUCCAUCC	874	020-38	A-131910.1	GGAUGGAGCAAGUCAAGUU	875	20-38
LECT2	AD-65831.1	A-131911.1	CCAUCCUCUUAAACUUUUU	876	033-51	A-131912.1	AAAAAGUUUAAGAGGAUGG	877	33-51
LECT2	AD-65837.1	A-131913.1	UAAACUUUUUGUGUCUCAC	878	042-60	A-131914.1	GUGAGACACAAAAAGUUUA	879	42-60
LECT2	AD-65843.1	A-131915.1	GUCUCACACUAAAGAAAUG	880	054-72	A-131916.1	CAUUUCUUUAGUGUGAGAC	881	54-72
LECT2	AD-65849.1	A-131917.1	AAAGAAAUGAGAGAUGCAG	882	064-82	A-131918.1	CUGCAUCUCUCAUUUCUUU	883	64-82
LECT2	AD-65855.1	A-131919.1	AUGCAGAAUUCUAAGGCUA	884	077-95	A-131920.1	UAGCCUUAGAAUUCUGCAU	885	77-95
LECT2	AD-65861.1	A-131921.1	UCUAAGGCUAAAUAGCUAG	886	086-104	A-131922.1	CUAGCUAUUUAGCCUUAGA	887	86-104
LECT2	AD-65820.1	A-131923.1	AUAGCUAGGAAGUAUUCAU	888	097-115	A-131924.1	AUGAAUACUUCCUAGCUAU	889	97-115
LECT2	AD-65826.1	A-131925.1	AUUCAUUCAAACUUGAAUA	890	110-128	A-131926.1	UAUUCAAGUUUGAAUGAAU	891	110-128
LECT2	AD-65832.1	A-131927.1	CUUGAAUAUUCUUCAAAGA	892	121-139	A-131928.1	UCUUUGAAGAAUAUUCAAG	893	121-139
LECT2	AD-65838.1	A-131929.1	CUUCAAAGAGAGUGUGGGG	894	131-149	A-131930.1	CCCCACACUCUCUUUGAAG	895	131-149
LECT2	AD-65844.1	A-131931.1	GUGUGGGGGCAACUCUAAU	896	142-160	A-131932.1	AUUAGAGUUGCCCCCACAC	897	142-160
LECT2	AD-65850.1	A-131933.1	AACUCUAAUCAGAGGAAGA	898	152-170	A-131934.1	UCUUCCUCUGAUUAGAGUU	899	152-170
LECT2	AD-65856.1	A-131935.1	AGGAAGAAACUAAAGGAAG	900	164-182	A-131936.1	CUUCCUUUAGUUUCUUCCU	901	164-182
LECT2	AD-65862.1	A-131937.1	UAAAGGAAGUAAAACCAGA	902	174-192	A-131938.1	UCUGGUUUUACUUCCUUUA	903	174-192
LECT2	AD-65821.1	A-131939.1	AAACCAGAUGUUUUCCACC	904	185-203	A-131940.1	GGUGGAAAACAUCUGGUUU	905	185-203
LECT2	AD-65827.1	A-131941.1	UCCACCAAAGCCCUCCUUU	906	198-216	A-131942.1	AAAGGAGGGCUUUGGUGGA	907	198-216
LECT2	AD-65833.1	A-131943.1	CCUCCUUUUGGCUGGUCUG	908	209-227	A-131944.1	CAGACCAGCCAAAAGGAGG	909	209-227
LECT2	AD-65839.1	A-131945.1	GGCUGGUCUGAUUUCUACC	910	218-236	A-131946.1	GGUAGAAAUCAGACCAGCC	911	218-236
LECT2	AD-65845.1	A-131947.1	UUUCUACCGCACUGGCAGG	912	229-247	A-131948.1	CCUGCCAGUGCGGUAGAAA	913	229-247
LECT2	AD-65851.1	A-131949.1	GGCAGGGCCAUGGGCUAAU	914	242-260	A-131950.1	AUUAGCCCAUGGCCCUGCC	915	242-260
LECT2	AD-65857.1	A-131951.1	GGGCUAAUAUAUGUGCUGG	916	253-271	A-131952.1	CCAGCACAUAUAUUAGCCC	917	253-271
LECT2	AD-65863.1	A-131953.1	AUGUGCUGGCAAGUCUUCC	918	263-281	A-131954.1	GGAAGACUUGCCAGCACAU	919	263-281
LECT2	AD-65822.1	A-131955.1	AAGUCUUCCAAUGAGAUCC	920	273-291	A-131956.1	GGAUCUCAUUGGAAGACUU	921	273-291
LECT2	AD-65828.1	A-131957.1	AGAUCCGGACGUGUGACCG	922	286-304	A-131958.1	CGGUCACACGUCCGGAUCU	923	286-304
LECT2	AD-65834.1	A-131959.1	GUGUGACCGCCAUGGCUGU	924	296-314	A-131960.1	ACAGCCAUGGCGGUCACAC	925	296-314
LECT2	AD-65840.1	A-131961.1	AUGGCUGUGGACAGUACUC	926	307-325	A-131962.1	GAGUACUGUCCACAGCCAU	927	307-325

LECT2	AD-65846.1	A-131963.1	AGUACUCUGCUCAAAGAAG	928	319-337	A-131964.1	CUUCUUUGAGCAGAGUACU	929	319-337
LECT2	AD-65852.1	A-131965.1	CAAAGAAGUCAGAGGCCUC	930	330-348	A-131966.1	GAGGCCUCUGACUUCUUUG	931	330-348
LECT2	AD-65858.1	A-131967.1	CAGAGGCCUCACCAGGGUG	932	339-357	A-131968.1	CACCCUGGUGAGGCCUCUG	933	339-357
LECT2	AD-65864.1	A-131969.1	CCAGGGUGUGGACAUCUUG	934	350-368	A-131970.1	CAAGAUGUCCACACCCUGG	935	350-368
LECT2	AD-65823.1	A-131971.1	ACAUCUUGUGCUCUGCUGG	936	361-379	A-131972.1	CCAGCAGAGCACAAGAUGU	937	361-379
LECT2	AD-65829.1	A-131973.1	CUGCUGGAUCUACUGUGUA	938	373-391	A-131974.1	UACACAGUAGAUCCAGCAG	939	373-391
LECT2	AD-65835.1	A-131975.1	CUGUGUACGCACCAUUCAC	940	385-403	A-131976.1	GUGAAUGGUGCGUACACAG	941	385-403
LECT2	AD-65841.1	A-131977.1	CCAUUCACUGGAAUGAUUG	942	396-414	A-131978.1	CAAUCAUUCCAGUGAAUGG	943	396-414
LECT2	AD-65847.1	A-131979.1	AAUGAUUGUGGGCCAGGAG	944	407-425	A-131980.1	CUCCUGGCCCACAAUCAUU	945	407-425
LECT2	AD-65853.1	A-131981.1	GGGCCAGGAGAAACCUUAU	946	416-434	A-131982.1	AUAAGGUUUCUCCUGGCCC	947	416-434
LECT2	AD-65859.1	A-131983.1	CCUUAUCAAAACAAGAAUG	948	429-447	A-131984.1	CAUUCUUGUUUUGAUAAGG	949	429-447
LECT2	AD-65865.1	A-131985.1	CAAGAAUGCUAUCAAUAAU	950	440-458	A-131986.1	AUUAUUGAUAGCAUUCUUG	951	440-458
LECT2	AD-65824.1	A-131987.1	AUCAAUAAUGGUGUUCGAA	952	450-468	A-131988.1	UUCGAACACCAUUAUUGAU	953	450-468
LECT2	AD-65830.1	A-131989.1	GUUCGAAUAUCUGGAAGAG	954	462-480	A-131990.1	CUCUUCCAGAUAUUCGAAC	955	462-480
LECT2	AD-65836.1	A-131991.1	UCUGGAAGAGGUUUUUGUG	956	471-489	A-131992.1	CACAAAAACCUCUUCCAGA	957	471-489
LECT2	AD-65842.1	A-131993.1	UUUUUGUGUCAAAAUGUUC	958	482-500	A-131994.1	GAACAUUUUGACACAAAAA	959	482-500
LECT2	AD-65848.1	A-131995.1	AUGUUCUACAUUAAGCCAA	960	495-513	A-131996.1	UUGGCUUAAUGUAGAACAU	961	495-513
LECT2	AD-65854.1	A-131997.1	UAAGCCAAUUAAGUAUAAA	962	506-524	A-131998.1	UUUAUACUUAAUUGGCUUA	963	506-524
LECT2	AD-65860.1	A-131999.1	AAGUAUAAAGGUCCUAUUA	964	516-534	A-132000.1	UAAUAGGACCUUUAUACUU	965	516-534
LECT2	AD-65866.1	A-132001.1	CCUAUUAAGAAGGGAGAAA	966	528-546	A-132002.1	UUUCUCCCUUCUUAAUAGG	967	528-546
LECT2	AD-65872.1	A-132003.1	AGGGAGAAAAACUUGGAAC	968	538-556	A-132004.1	GUUCCAAGUUUUUCUCCCU	969	538-556
LECT2	AD-65878.1	A-132005.1	CUUGGAACUCUAUUGCCCU	970	549-567	A-132006.1	AGGGCAAUAGAGUUCCAAG	971	549-567
LECT2	AD-65884.1	A-132007.1	UUGCCCUUGCAGAAAGUUU	972	561-579	A-132008.1	AAACUUUCUGCAAGGGCAA	973	561-579
LECT2	AD-65890.1	A-132009.1	AGAAAGUUUAUCCUGGCAU	974	571-589	A-132010.1	AUGCCAGGAUAAACUUUCU	975	571-589
LECT2	AD-65896.1	A-132011.1	CCUGGCAUACAAUCGCAUG	976	582-600	A-132012.1	CAUGCGAUUGUAUGCCAGG	977	582-600
LECT2	AD-65902.1	A-132013.1	AUCGCAUGUGCACAUUGAA	978	593-611	A-132014.1	UUCAAUGUGCACAUGCGAU	979	593-611
LECT2	AD-65907.1	A-132015.1	CAUUGAAAACUGUGACUCG	980	605-623	A-132016.1	CGAGUCACAGUUUUCAAUG	981	605-623
LECT2	AD-65867.1	A-132017.1	GUGACUCGAGUGACCCUAC	982	616-634	A-132018.1	GUAGGGUCACUCGAGUCAC	983	616-634
LECT2	AD-65873.1	A-132019.1	UGACCCUACUGCAUACCUG	984	626-644	A-132020.1	CAGGUAUGCAGUAGGGUCA	985	626-644
LECT2	AD-65879.1	A-132021.1	CAUACCUGUAAAUCGAAGG	986	637-655	A-132022.1	CCUUCGAUUUACAGGUAUG	987	637-655
LECT2	AD-65891.1	A-132025.1	UGGUCAGAUCUUCAAAAUA	988	660-678	A-132026.1	UAUUUUGAAGAUCUGACCA	989	660-678
LECT2	AD-65897.1	A-132027.1	CUUCAAAAUAAAAAGUCAU	990	669-687	A-132028.1	AUGACUUUUUAUUUUGAAG	991	669-687
LECT2	AD-65903.1	A-132029.1	AAGUCAUCUUAAAAACCUG	992	681-699	A-132030.1	CAGGUUUUUAAGAUGACUU	993	681-699

LECT2	AD-65908.1	A-132031.1	AAAACCUGGAUGCAUACCC	994	692-710	A-132032.1	GGGUAUGCAUCCAGGUUUU	995	692-710
LECT2	AD-65868.1	A-132033.1	GCAUACCCUUCUCUUCAAG	996	703-721	A-132034.1	CUUGAAGAGAAGGGUAUGC	997	703-721
LECT2	AD-65874.1	A-132035.1	CUUCAAGAAAUUUGUGUUC	998	715-733	A-132036.1	GAACACAAAUUUCUUGAAG	999	715-733
LECT2	AD-65880.1	A-132037.1	UUGUGUUCACAAAGGAAAA	1000	726-744	A-132038.1	UUUUCCUUUGUGAACACAA	1001	726-744
LECT2	AD-65886.1	A-132039.1	AAGGAAAAAUGCAUGAAGG	1002	737-755	A-132040.1	CCUUCAUGCAUUUUUCCUU	1003	737-755
LECT2	AD-65892.1	A-132041.1	UGCAUGAAGGGAUGGAUAC	1004	746-764	A-132042.1	GUAUCCAUCCCUUCAUGCA	1005	746-764
LECT2	AD-65898.1	A-132043.1	UGGAUACCCCAUUUUCCAU	1006	758-776	A-132044.1	AUGGAAAAUGGGGUAUCCA	1007	758-776
LECT2	AD-65904.1	A-132045.1	UUUCCAUGACAUGAUUAUU	1008	770-788	A-132046.1	AAUAAUCAUGUCAUGGAAA	1009	770-788
LECT2	AD-65909.1	A-132047.1	CAUGAUUAUUACACAUUGC	1010	779-797	A-132048.1	GCAAUGUGUAAUAAUCAUG	1011	779-797
LECT2	AD-65869.1	A-132049.1	CACAUUGCAUGCCUGUAUC	1012	790-808	A-132050.1	GAUACAGGCAUGCAAUGUG	1013	790-808
LECT2	AD-65875.1	A-132051.1	CCUGUAUCAAAACAUCUCA	1014	801-819	A-132052.1	UGAGAUGUUUUGAUACAGG	1015	801-819
LECT2	AD-65881.1	A-132053.1	CAUCUCACGUACCUCAUAA	1016	813-831	A-132054.1	UUAUGAGGUACGUGAGAUG	1017	813-831
LECT2	AD-65887.1	A-132055.1	CCUCAUAAACAUAUACACC	1018	824-842	A-132056.1	GGUGUAUAUGUUUAUGAGG	1019	824-842
LECT2	AD-65893.1	A-132057.1	AUACACCUAUGUACCCACA	1020	836-854	A-132058.1	UGUGGGUACAUAGGUGUAU	1021	836-854
LECT2	AD-65899.1	A-132059.1	GUACCCACAAAAAUUUUUU	1022	846-864	A-132060.1	AAAAAAUUUUUGUGGGUAC	1023	846-864
LECT2	AD-65905.1	A-132061.1	UAAAAAAAGGAAAUUUGAG	1024	856-874	A-132062.1	CUCAAAUUUCCUUUUUUUA	1025	856-874
LECT2	AD-65910.1	A-132063.1	AAUUUGAGUUUAAAUAGAA	1026	867-885	A-132064.1	UUCUAUUUAAACUCAAAUU	1027	867-885
LECT2	AD-65870.1	A-132065.1	AUAGAAACAUGAUAAAUGC	1028	880-898	A-132066.1	GCAUUUAUCAUGUUUCUAU	1029	880-898
LECT2	AD-65876.1	A-132067.1	GAUAAAUGCAAGAAAGAAA	1030	890-908	A-132068.1	UUUCUUUCUUGCAUUUAUC	1031	890-908
LECT2	AD-65882.1	A-132069.1	GAAAGAAAACAUUUUGAUU	1032	901-919	A-132070.1	AAUCAAAAUGUUUUCUUUC	1033	901-919
LECT2	AD-65894.1	A-132073.1	ACUCAUUGUCACUCUGAUG	1034	923-941	A-132074.1	CAUCAGAGUGACAAUGAGU	1035	923-941
LECT2	AD-65900.1	A-132075.1	CUCUGAUGUUCAUGUGAAC	1036	934-952	A-132076.1	GUUCACAUGAACAUCAGAG	1037	934-952
LECT2	AD-65906.1	A-132077.1	CAUGUGAACUGGUUGCUUC	1038	944-962	A-132078.1	GAAGCAACCAGUUCACAUG	1039	944-962
LECT2	AD-65911.1	A-132079.1	GUUGCUUCGGGCUCUUUGA	1040	955-973	A-132080.1	UCAAAGAGCCCGAAGCAAC	1041	955-973
LECT2	AD-65871.1	A-132081.1	UCUUUGAUCUGUCACCUAU	1042	967-985	A-132082.1	AUAGGUGACAGAUCAAAGA	1043	967-985
LECT2	AD-65877.1	A-132083.1	CACCUAUGGAAUCUGAGUG	1044	979-997	A-132084.1	CACUCAGAUUCCAUAGGUG	1045	979-997
LECT2	AD-65883.1	A-132085.1	AAUCUGAGUGGUUUUAUUU	1046	988-1006	A-132086.1	AAAUAAAACCACUCAGAUU	1047	988-1006
LECT2	AD-65889.1	A-132087.1	UUUUUUAGAUUUCUCAGUC	1048	999-1017	A-132088.1	GACUGAGAAAUCUAAAAAA	1049	999-1017
LECT2	AD-65895.1	A-132089.1	CUCAGUCCCAAAGAUCUAA	1050	1011-1029	A-132090.1	UUAGAUCUUUGGGACUGAG	1051	1011-1029
LECT2	AD-65901.1	A-132091.1	GAUCUAAGAUAAAUAAACA	1052	1023-1041	A-132092.1	UGUUUAUUUAUCUUAGAUC	1053	1023-1041

Resultados

Los resultados del cribado de dosis única en hepatocitos de mono primarios usando secuencias de ARNip de LECT2 modificadas se muestran en la Tabla 11. Los experimentos de dosis única se llevaron a cabo a una concentración de dúplex final de 10 nM, y los datos se expresan como porcentaje de mensaje que queda con respecto a control no seleccionador de diana AD-1955.

Tabla 11. Cribado de Dosis Única de Lect2 en Hepatocitos de Mono Primarios

Nombre del dúplex	10nM media	10nM desviación estándar
AD-65819.1	11.7	8.5
AD-65825.1	50.7	28.0
AD-65831.1	75.3	49.5
AD-65837.1	75.5	32.7
AD-65843.1	5.5	3.0
AD-65849.1	104.5	64.9
AD-65855.1	114.1	36.7
AD-65861.1	81.5	49.6
AD-65820.1	3.3	1.4
AD-65826.1	43.6	18.4
AD-65832.1	6.5	2.2
AD-65838.1	61.8	11.9
AD-65844.1	4.2	2.1
AD-65850.1	85.8	24.0
AD-65856.1	105.4	24.0
AD-65862.1	50.4	15.5
AD-65821.1	56.1	32.5
AD-65827.1	37.8	5.7
AD-65833.1	4.7	2.6
AD-65839.1	5.2	1.6
AD-65845.1	65.1	19.1
AD-65851.1	46.1	5.4

AD-65857.1	35.0	5.4
AD-65863.1	58.0	14.4
AD-65822.1	82.7	10.4
AD-65828.1	95.9	29.0
AD-65834.1	7.9	2.9
AD-65840.1	98.3	39.1
AD-65846.1	33.8	16.1
AD-65852.1	32.8	4.4
AD-65858.1	73.4	29.3
AD-65864.1	7.0	3.0
AD-65823.1	54.5	18.8
AD-65829.1	17.1	14.8
AD-65835.1	100.4	31.8
AD-65841.1	11.1	10.4
AD-65847.1	165.1	39.2
AD-65853.1	1.7	0.3
AD-65859.1	39.9	6.3
AD-65865.1	76.5	17.0
AD-65824.1	66.0	10.5
AD-65830.1	106.0	16.1
AD-65836.1	67.5	19.2
AD-65842.1	147.3	38.9
AD-65848.1	20.1	4.5
AD-65854.1	40.4	12.1
AD-65860.1	62.8	19.0
AD-65866.1	49.8	8.9
AD-65872.1	45.6	15.8
AD-65878.1	11.4	5.6
AD-65884.1	6.1	2.5
AD-65890.1	47.1	23.0
AD-65896.1	108.3	58.2
AD-65902.1	9.8	3.3
AD-65907.1	19.6	4.7
AD-65867.1	39.9	8.8
AD-65873.1	14.8	5.1
AD-65879.1	113.2	7.1
AD-65891.1	2.5	1.5
AD-65897.1	15.0	6.7

AD-65903.1	44.8	14.0
AD-65908.1	77.1	23.6
AD-65868.1	32.7	3.9
AD-65874.1	119.4	35.4
AD-65880.1	117.6	30.6
AD-65886.1	127.8	45.3
AD-65892.1	80.0	20.6
AD-65898.1	75.1	29.3
AD-65904.1	123.8	31.5
AD-65909.1	97.9	10.0
AD-65869.1	34.3	8.4
AD-65875.1	76.5	12.1
AD-65881.1	35.7	6.4
AD-65887.1	88.8	32.6
AD-65893.1	141.7	5.5
AD-65899.1	149.8	29.1
AD-65905.1	167.5	36.8
AD-65910.1	58.5	20.7
AD-65870.1	92.3	33.3
AD-65876.1	86.8	22.2
AD-65882.1	65.5	10.6
AD-65894.1	69.4	20.5
AD-65900.1	125.0	57.8
AD-65906.1	153.4	54.0
AD-65911.1	114.4	24.2
AD-65871.1	59.6	26.4
AD-65877.1	58.1	18.5
AD-65883.1	60.3	16.6
AD-65889.1	74.1	25.1
AD-65895.1	94.0	11.8
AD-65901.1	92.4	6.2
AD-1955	100.1	24.7

EQUIVALENTES

Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de establecer utilizando tan solo experimentación rutinaria,

muchos equivalentes de las realizaciones específicas de la invención descritas en la presente. Se pretende que tales equivalentes queden englobados en las siguientes reivindicaciones.

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.

```
   1 aaatcaaata gctatccatg gaatattaga acttgacttg ctccatcctc ttaaactttt
  61 tgtgtctcac actaaagaaa tgagagatgc agaattctaa ggctaaatag ctaggaagta
 121 ttcattcaaa cttgaatatt cttcaaagag agtgtggggg caactctaat cagaggaaga
 181 aactaaagga agtaaaacca gatgttttcc accaaagccc tccttttggc tggtctgatt
 241 tctaccgcac tggcagggcc atgggctaat atatgtgctg gcaagtcttc caatgagatc
 301 cggacgtgtg accgccatgg ctgtggacag tactctgctc aaagaagtca gaggcctcac
 361 cagggtgtgg acatcttgtg ctctgctgga tctactgtgt acgcaccatt cactggaatg
 421 attgtgggcc aggagaaacc ttatcaaaac aagaatgcta tcaataatgg tgttcgaata
 481 tctggaagag gtttttgtgt caaaatgttc tacattaagc caattaagta taaaggtcct
 541 attaagaagg gagaaaaact tggaactcta ttgcccttgc agaaagttta tcctggcata
 601 caatcgcatg tgcacattga aaactgtgac tcgagtgacc ctactgcata cctgtaaatc
 661 gaaggccaat ggtcagatct tcaaaataaa aagtcatctt aaaaacctgg atgcataccc
 721 ttctcttcaa gaaatttgtg ttcacaaagg aaaaatgcat gaagggatgg ataccccatt
 781 ttccatgaca tgattattac acattgcatg cctgtatcaa aacatctcac gtacctcata
 841 aacatataca cctatgtacc cacaaaaatt ttttaattaa aaaaaggaaa tttgagttta
 901 aatagaaaca tgataaatgc aagaaagaaa acattttgat tttaactcat tgtcactctg
 961 atgttcatgt gaactggttg cttcgggctc tttgatctgt cacctatgga atctgagtgg
1021 ttttatttt tagatttctc agtcccaaag atctaagata aataaacaag agaactt
```

SEQ ID NO:1

FIG. 1

LISTA DE SECUENCIAS

<110> ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.

<120> COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA INHIBIR LA EXPRESIÓN DEL GEN LECT2

<130> A2038-7200WO

<140>
<141>

<150> 62/035,819
<151> 2014-08-11

<150> 61/885,693
<151> 2013-10-02

<160> 1053

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 1077
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 1
aaatcaaata gctatccatg gaatattaga acttgacttg ctccatcctc ttaaactttt 60

tgtgtctcac actaaagaaa tgagagatgc agaattctaa ggctaaatag ctaggaagta 120

ttcattcaaa cttgaatatt cttcaaagag agtgtggggg caactctaat cagaggaaga 180

aactaaagga agtaaaacca gatgttttcc accaaagccc tccttttggc tggtctgatt 240

tctaccgcac tggcagggcc atgggctaat atatgtgctg gcaagtcttc caatgagatc 300

cggacgtgtg accgccatgg ctgtggacag tactctgctc aaagaagtca gaggcctcac 360

cagggtgtgg acatcttgtg ctctgctgga tctactgtgt acgcaccatt cactggaatg 420

attgtgggcc aggagaaacc ttatcaaaac aagaatgcta tcaataatgg tgttcgaata 480

tctggaagag gtttttgtgt caaaatgttc tacattaagc caattaagta taaaggtcct 540

attaagaagg gagaaaaact tggaactcta ttgcccttgc agaaagttta tcctggcata 600

caatcgcatg tgcacattga aaactgtgac tcgagtgacc ctactgcata cctgtaaatc 660

gaaggccaat ggtcagatct tcaaaataaa aagtcatctt aaaaacctgg atgcataccc 720

ttctcttcaa gaaatttgtg ttcacaaagg aaaaatgcat gaagggatgg ataccccatt 780

ttccatgaca tgattattac acattgcatg cctgtatcaa aacatctcac gtacctcata 840

aacatataca cctatgtacc cacaaaaatt ttttaattaa aaaaaggaaa tttgagttta 900

aatagaaaca tgataaatgc aagaaagaaa acattttgat tttaactcat tgtcactctg 960

atgttcatgt gaactggttg cttcgggctc tttgatctgt cacctatgga atctgagtgg 1020

ttttattttt tagatttctc agtcccaaag atctaagata aataaacaag agaactt 1077

<210> 2
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 2
aaaucaaaua gcuauccau 19

<210> 3
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 3
auggauagcu auuugauuu 19

<210> 4
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 4
aauagcuauc cauggaaua 19

<210> 5
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 5
uauuccaugg auagcuauu 19

<210> 6
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 6
uauccaugga auauuagaa 19

<210> 7
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 7
uucuaauauu ccauggaua 19

<210> 8
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 8
auggaauauu agaacuuga 19

<210> 9
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 9
ucaaguucua auauuccau 19

<210> 10
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 10
gaauauuaga acuugacuu 19

<210> 11

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 11
aagucaaguu cuaauauuc 19

<210> 12
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 12
agaacuugac uugcuccau 19

<210> 13
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 13
auggagcaag ucaaguucu 19

<210> 14
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 14
gaacuugacu ugcuccauc 19

<210> 15
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 15
gauggagcaa gucaaguuc 19

<210> 16
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 16
ugacuugcuc cauccucuu 19

<210> 17
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 17
aagaggaugg agcaaguca 19

<210> 18
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 18
ccauccucuu aaacuuuuu 19

<210> 19
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 19
aaaaaguuua agaggaugg 19

<210> 20
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 20
ccucuuaaac uuuuugugu 19

<210> 21
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 21
acacaaaaag uuuaagagg 19

<210> 22
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 22
ucuuaaacuu uuugugucu 19

<210> 23
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 23
agacacaaaa aguuuaaga 19

<210> 24
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 24

cuuuuugugu cucacacua 19

<210> 25
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 25
uagugugaga cacaaaaag 19

<210> 26
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 26
gugucucaca cuaaagaaa 19

<210> 27
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 27
uuucuuuagu gugagacac 19

<210> 28
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 28
ucacacuaaa gaaaugaga 19

<210> 29
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 29
ucucauuucu uuaguguga 19

<210> 30
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 30
acacuaaaga aaugagaga 19

<210> 31
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 31
ucucucauuu cuuuagugu 19

<210> 32
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 32
agaaaugaga gaugcagaa 19

<210> 33
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 33
uucugcaucu cucauuucu 19

<210> 34
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 34
gagagaugca gaauucuaa 19

<210> 35

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 35
uuagaauucu gcaucucuc 19

<210> 36
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 36
augcagaauu cuaaggcua 19

<210> 37
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 37
uagccuuaga auucugcau 19

<210> 38
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 38
gaauucuaag gcuaaauag 19

<210> 39
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 39
cuauuuagcc uuagaauuc 19

<210> 40
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 40
uucuaaggcu aaauagcua 19

<210> 41
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 41
uagcuauuua gccuuagaa 19

<210> 42
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 42
cuaaauagcu aggaaguau 19

<210> 43
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 43
auacuuccua gcuauuuag 19

<210> 44
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 44
auagcuagga aguauucau 19

<210> 45
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 45
augaauacuu ccuagcuau 19

<210> 46
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 46
ggaaguauuc auucaaacu 19

<210> 47
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 47
aguuugaaug aauacuucc 19

<210> 48
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 48

cauucaaacu ugaauauuc 19

<210> 49
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 49
gaauauucaa guuugaaug 19

<210> 50
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 50
cuugaauauu cuucaaaga 19

<210> 51
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 51
ucuuugaaga auauucaag 19

<210> 52
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 52
cuucaaagag agugugggg 19

<210> 53
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 53
ccccacacuc ucuuugaag 19

<210> 54
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 54
caaagagagu gugggggca 19

<210> 55
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 55
ugccccaca cucucuuug 19

<210> 56
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 56
gugugggggc aacucuaau 19

<210> 57
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 57
auuagaguug cccccacac 19

<210> 58
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 58
gggggcaacu cuaaucaga 19

<210> 59

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 59
ucugauuaga guugccccc 19

<210> 60
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 60
aacucuaauc agaggaaga 19

<210> 61
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 61
ucuuccucug auuagaguu 19

<210> 62
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 62
aaucagagga agaaacuaa 19

<210> 63
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 63
uuaguuucuu ccucugauu 19

<210> 64
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 64
aucagaggaa gaaacuaaa 19

<210> 65
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 65
uuuaguuucu uccucugau 19

<210> 66
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 66
agaaacuaaa ggaaguaaa 19

<210> 67
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 67
uuuacuuccu uuaguuucu 19

<210> 68
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 68
gaaacuaaag gaaguaaaa 19

<210> 69
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 69
uuuuacuucc uuuaguuuc 19

<210> 70
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 70
uaaaggaagu aaaaccaga 19

<210> 71
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 71
ucuggguuua cuuccuuua 19

<210> 72
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 72

aaguaaaacc agauguuuu 19

<210> 73
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 73
aaaacaucug guuuuacuu 19

<210> 74
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 74
ccagauguuu uccaccaaa 19

<210> 75
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 75
uuugguggaa aacaucugg 19

<210> 76
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 76
cagauguuuu ccaccaaag 19

<210> 77
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 77
cuuuggugga aaacaucug 19

<210> 78
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 78
uccaccaaag cccuccuuu 19

<210> 79
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 79
aaaggagggc uuuggugga 19

<210> 80
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 80
ccaccaaagc ccuccuuuu 19

<210> 81
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 81
aaaaggaggg cuuuggugg 19

<210> 82
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 82
cccuccuuuu ggcuggucu 19

<210> 83

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 83
agaccagcca aaaggaggg 19

<210> 84
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 84
ggcuggucug auuucuacc 19

<210> 85
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 85
gguagaaauc agaccagcc 19

<210> 86
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 86
ggucugauuu cuaccgcac 19

<210> 87
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 87
gugcgguaga aaucagacc 19

<210> 88
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 88
gauuucuacc gcacuggca 19

<210> 89
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 89
ugccagugcg guagaaauc 19

<210> 90
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 90
uaccgcacug gcagggcca 19

<210> 91
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 91
uggcccugcc agugcggua 19

<210> 92
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 92
ccgcacuggc agggccaug 19

<210> 93
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 93
cauggcccug ccagugcgg 19

<210> 94
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 94
ggcagggcca ugggcuaau 19

<210> 95
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 95
auuagcccau ggcccugcc 19

<210> 96
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 96

gccaugggcu aauauaugu 19

<210> 97
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 97
acauauauua gcccauggc 19

<210> 98
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 98
ccaugggcua auauaugug 19

<210> 99
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 99
cacauauauu agcccaugg 19

<210> 100
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 100
cuaauauaug ugcuggcaa 19

<210> 101
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 101
uugccagcac auauauuag 19

<210> 102
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 102
auaugugcug gcaagucuu 19

<210> 103
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 103
aagacuugcc agcacauau 19

<210> 104
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 104
cuggcaaguc uuccaauga 19

<210> 105
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 105
ucauuggaag acuugccag 19

<210> 106
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 106
gcaagucuuc caaugagau 19

<210> 107

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 107
aucucauugg aagacuugc 19

<210> 108
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 108
ucuuccaaug agauccgga 19

<210> 109
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 109
uccggaucuc auuggaaga 19

<210> 110
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 110
augagauccg gacguguga 19

<210> 111
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 111
ucacacgucc ggaucucau 19

<210> 112
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 112
gauccggacg ugugaccgc 19

<210> 113
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 113
gcggucacac guccggauc 19

<210> 114
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 114
cggacgugug accgccaug 19

<210> 115
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 115
cauggcgguc acacguccg 19

<210> 116
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 116
acgugugacc gccauggcu 19

<210> 117
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 117
agccauggcg gucacacgu 19

<210> 118
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 118
ccgccauggc uguggacag 19

<210> 119
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 119
cuguccacag ccauggcgg 19

<210> 120
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 120

ccauggcugu ggacaguac 19

<210> 121
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 121
guacugucca cagccaugg 19

<210> 122
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 122
ggcuguggac aguacucug 19

<210> 123
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 123
cagaguacug uccacagcc 19

<210> 124
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 124
guacucugcu caaagaagu 19

<210> 125
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 125
acuucuuuga gcagaguac 19

<210> 126
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 126
ucugcucaaa gaagucaga 19

<210> 127
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 127
ucugacuucu uugagcaga 19

<210> 128
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 128
caaagaaguc agaggccuc 19

<210> 129
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 129
gaggccucug acuucuuug 19

<210> 130
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 130
aagucagagg ccucaccag 19

<210> 131

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 131
cuggugaggc cucugacuu 19

<210> 132
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 132
gaggccucac cagggugug 19

<210> 133
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 133
cacacccugg ugaggccuc 19

<210> 134
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 134
gccucaccag gguguggac 19

<210> 135
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 135
guccacaccc uggugaggc 19

<210> 136
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 136
ccagggugug gacaucuug 19

<210> 137
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 137
caagaugucc acacccugg 19

<210> 138
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 138
gguguggaca ucuugugcu 19

<210> 139
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 139
agcacaagau guccacacc 19

<210> 140
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 140
acaucuugug cucugcugg 19

<210> 141
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 141
ccagcagagc acaagaugu 19

<210> 142
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 142
gugcucugcu ggaucuacu 19

<210> 143
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 143
aguagaucca gcagagcac 19

<210> 144
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 144

cugcuggauc uacugugua 19

<210> 145
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 145
uacacaguag auccagcag 19

<210> 146
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 146
ggaucuacug uguacgcac 19

<210> 147
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 147
gugcguacac aguagaucc 19

<210> 148
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 148
cuacugugua cgcaccauu 19

<210> 149
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 149
aauggugcgu acacaguag 19

<210> 150
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 150
cuguguacgc accauucac 19

<210> 151
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 151
gugaauggug cguacacag 19

<210> 152
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 152
gcaccauuca cuggaauga 19

<210> 153
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 153
ucauuccagu gaauggugc 19

<210> 154
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 154
ccauucacug gaaugauug 19

<210> 155

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 155
caaucauucc agugaaugg 19

<210> 156
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 156
cuggaaugau ugugggcca 19

<210> 157
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 157
uggcccacaa ucauuccag 19

<210> 158
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 158
gaaugauugu gggccagga 19

<210> 159
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 159
uccuggccca caaucauuc 19

<210> 160
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 160
gauugugggc caggagaaa 19

<210> 161
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 161
uuucuccugg cccacaauc 19

<210> 162
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 162
gggccaggag aaaccuuau 19

<210> 163
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 163
auaagguuuc uccuggccc 19

<210> 164
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 164
caggagaaac cuuaucaaa 19

<210> 165
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 165
uuugauaagg uuucuccug 19

<210> 166
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 166
aaaccuuauc aaaacaaga 19

<210> 167
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 167
ucuuguuuug auaagguuu 19

<210> 168
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 168

uaucaaaaca agaaugcua 19

<210> 169
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 169
uagcauucuu guuuugaua 19

<210> 170
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 170
aacaagaaug cuaucaaua 19

<210> 171
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 171
uauugauagc auucuuguu 19

<210> 172
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 172
caagaaugcu aucaauaau 19

<210> 173
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 173
auuauugaua gcauucuug 19

<210> 174
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 174
caauaauggu guucgaaua 19

<210> 175
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 175
uauucgaaca ccauuauug 19

<210> 176
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 176
uaaugguguu cgaauaucu 19

<210> 177
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 177
agauauucga acaccauua 19

<210> 178
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 178
uguucgaaua ucuggaaga 19

<210> 179

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 179
ucuuccagau auucgaaca 19

<210> 180
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 180
auaucuggaa gagguuuuu 19

<210> 181
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 181
aaaaaccucu uccagauau 19

<210> 182
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 182
aucuggaaga gguuuuugu 19

<210> 183
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 183
acaaaaaccu cuuccagau 19

<210> 184
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 184
agagguuuuu gugucaaaa 19

<210> 185
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 185
uuuugacaca aaaaccucu 19

<210> 186
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 186
gguuuuugug ucaaaaugu 19

<210> 187
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 187
acauuuugac acaaaaacc 19

<210> 188
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 188
gugucaaaau guucuacau 19

<210> 189
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 189
auguagaaca uuuugacac 19

<210> 190
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 190
ucaaaauguu cuacauuaa 19

<210> 191
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 191
uuaauguaga acauuuuga 19

<210> 192
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 192

uguucuacau uaagccaau 19

<210> 193
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 193
auuggcuuaa uguagaaca 19

<210> 194
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 194
guauaaaggu ccuauuaag 19

<210> 195
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 195
cuuaauagga ccuuuauac 19

<210> 196
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 196
uauaaagguc cuauuaaga 19

<210> 197
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 197
ucuuaauagg accuuuaua 19

<210> 198
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 198
ccuauuaaga agggagaaa 19

<210> 199
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 199
uuucucccuu cuuaauagg 19

<210> 200
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 200
cuauuaagaa gggagaaaa 19

<210> 201
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 201
uuuucucccu ucuuaauag 19

<210> 202
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 202
aagaagggag aaaaacuug 19

<210> 203

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 203
caaguuuuuc ucccuucuu 19

<210> 204
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 204
agaaaaacuu ggaacucua 19

<210> 205
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 205
uagaguucca aguuuuucu 19

<210> 206
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 206
aaaacuugga acucuauug 19

<210> 207
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 207
caauagaguu ccaaguuuu 19

<210> 208
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 208
cuuggaacuc uauugcccu 19

<210> 209
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 209
agggcaauag aguuccaag 19

<210> 210
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 210
cucuauugcc cuugcagaa 19

<210> 211
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 211
uucugcaagg gcaauagag 19

<210> 212
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 212
gcccuugcag aaaguuuau 19

<210> 213
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 213
auaaacuuuc ugcaagggc 19

<210> 214
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 214
cccuugcaga aaguuuauc 19

<210> 215
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 215
gauaaacuuu cugcaaggg 19

<210> 216
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 216

agaaaguuua uccuggcau 19

<210> 217
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 217
augccaggau aaacuuucu 19

<210> 218
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 218
aguuuauccu ggcauacaa 19

<210> 219
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 219
uuguaugcca ggauaaacu 19

<210> 220
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 220
ccuggcauac aaucgcaug 19

<210> 221
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 221
caugcgauug uaugccagg 19

<210> 222
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 222
auacaaucgc augugcaca 19

<210> 223
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 223
ugugcacaug cgauuguau 19

<210> 224
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 224
aucgcaugug cacauugaa 19

<210> 225
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 225
uucaaugugc acaugcgau 19

<210> 226
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 226
gcaugugcac auugaaaac 19

<210> 227

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 227
guuuucaaug ugcacaugc 19

<210> 228
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 228
ugcacauuga aaacuguga 19

<210> 229
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 229
ucacaguuuu caaugugca 19

<210> 230
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 230
auugaaaacu gugacucga 19

<210> 231
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 231
ucgagucaca guuuucaau 19

<210> 232
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 232
aaaacuguga cucgaguga 19

<210> 233
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 233
ucacucgagu cacaguuuu 19

<210> 234
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 234
ugugacucga gugacccua 19

<210> 235
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 235
uagggucacu cgagucaca 19

<210> 236
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 236
gagugacccu acugcauac 19

<210> 237
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 237
guaugcagua gggucacuc 19

<210> 238
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 238
gacccuacug cauaccugu 19

<210> 239
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 239
acagguaugc aguaggguc 19

<210> 240
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 240

ccuacugcau accuguaaa 19

<210> 241
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 241
uuuacaggua ugcaguagg 19

<210> 242
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 242
cugcauaccu guaaaucga 19

<210> 243
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 243
ucgauuuaca gguaugcag 19

<210> 244
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 244
ccuguaaauc gaaggccaa 19

<210> 245
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 245
uuggccuucg auuuacagg 19

<210> 246
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 246
aaucgaaggc caaugguca 19

<210> 247
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 247
ugaccauugg ccuucgauu 19

<210> 248
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 248
aggccaaugg ucagaucuu 19

<210> 249
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 249
aagaucugac cauuggccu 19

<210> 250
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 250
caauggucag aucuucaaa 19

<210> 251

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 251
uuugaagauc ugaccauug 19

<210> 252
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 252
cagaucuuca aaauaaaaa 19

<210> 253
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 253
uuuuuauuuu gaagaucug 19

<210> 254
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 254
auaaaaaguc aucuuaaaa 19

<210> 255
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 255
uuuuaagaug acuuuuuau 19

<210> 256
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 256
aagucaucuu aaaaaccug 19

<210> 257
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 257
cagguuuuua agaugacuu 19

<210> 258
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 258
cuuaaaaacc uggaugcau 19

<210> 259
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 259
augcauccag guuuuuaag 19

<210> 260
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 260
uuaaaaaccu ggaugcaua 19

<210> 261
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 261
uaugcaucca gguuuuuaa 19

<210> 262
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 262
ccuggaugca uacccuucu 19

<210> 263
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 263
agaaggguau gcauccagg 19

<210> 264
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 264

ggaugcauac ccuucucuu 19

<210> 265
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 265
aagagaaggg uaugcaucc 19

<210> 266
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 266
uacccuucuc uucaagaaa 19

<210> 267
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 267
uuucuugaag agaagggua 19

<210> 268
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 268
ccuucucuuc aagaaauuu 19

<210> 269
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 269
aaauuucuug aagagaagg 19

<210> 270
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 270
caagaaauuu guguucaca 19

<210> 271
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 271
ugugaacaca aauuucuug 19

<210> 272
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 272
agaaauuugu guucacaaa 19

<210> 273
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 273
uuugugaaca caaauuucu 19

<210> 274
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 274
uuguguucac aaaggaaaa 19

<210> 275

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 275
uuuuccuuug ugaacacaa 19

<210> 276
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 276
cacaaaggaa aaaugcaug 19

<210> 277
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 277
caugcauuuu uccuuugug 19

<210> 278
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 278
caaaggaaaa augcaugaa 19

<210> 279
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 279
uucaugcauu uuuccuuug 19

<210> 280
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 280
gaaaaaugca ugaagggau 19

<210> 281
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 281
aucccuucau gcauuuuuc 19

<210> 282
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 282
augcaugaag ggauggaua 19

<210> 283
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 283
uauccauccc uucaugcau 19

<210> 284
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 284
agggauggau accccauuu 19

<210> 285
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 285
aaauggggua uccaucccu 19

<210> 286
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 286
gggauggaua ccccauuuu 19

<210> 287
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 287
aaaauggggu auccauccc 19

<210> 288
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 288

accccauuuu ccaugacau 19

<210> 289
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 289
augucaugga aaauggggu 19

<210> 290
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 290
ccccauuuuc caugacaug 19

<210> 291
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 291
caugucaugg aaaaugggg 19

<210> 292
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 292
ccaugacaug auuauuaca 19

<210> 293
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 293
uguaauaauc augucaugg 19

<210> 294
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 294
ugacaugauu auuacacau 19

<210> 295
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 295
auguguaaua aucauguca 19

<210> 296
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 296
gauuauuaca cauugcaug 19

<210> 297
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 297
caugcaaugu guaauaauc 19

<210> 298
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 298
uacacauugc augccugua 19

<210> 299

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 299
uacaggcaug caaugugua 19

<210> 300
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 300
auugcaugcc uguaucaaa 19

<210> 301
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 301
uuugauacag gcaugcaau 19

<210> 302
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 302
uugcaugccu guaucaaaa 19

<210> 303
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 303
uuuugauaca ggcaugcaa 19

<210> 304
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 304
uaucaaaaca ucucacgua 19

<210> 305
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 305
uacgugagau guuuugaua 19

<210> 306
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 306
caucucacgu accucauaa 19

<210> 307
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 307
uuaugaggua cgugagaug 19

<210> 308
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 308
cacguaccuc auaaacaua 19

<210> 309
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 309
uauguuuaug agguacgug 19

<210> 310
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 310
cguaccucau aaacauaua 19

<210> 311
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 311
uauauguuua ugagguacg 19

<210> 312
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 312

aaacauauac accuaugua 19

<210> 313
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 313
uacauaggug uauauguuu 19

<210> 314
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 314
acaccuaugu acccacaaa 19

<210> 315
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 315
uuugugggua cauaggugu 19

<210> 316
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 316
caccuaugua cccacaaaa 19

<210> 317
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 317
uuuugugggu acauaggug 19

<210> 318
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 318
acccacaaaa auuuuuuaa 19

<210> 319
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 319
uuaaaaaauu uuugugggu 19

<210> 320
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 320
caaaaauuuu uuaauuaaa 19

<210> 321
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 321
uuuaauuaaa aaauuuuug 19

<210> 322
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 322
uuuaauuaaa aaaaggaaa 19

<210> 323

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 323
uuuccuuuuu uuaauuaaa 19

<210> 324
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 324
uuaaaaaaag gaaauuuga 19

<210> 325
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 325
ucaaauuucc uuuuuuuaa 19

<210> 326
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 326
aaaggaaauu ugaguuuaa 19

<210> 327
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 327
uuaaacucaa auuuccuuu 19

<210> 328
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 328
ggaaauuuga guuuaaaua 19

<210> 329
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 329
uauuuaaacu caaauuucc 19

<210> 330
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 330
aauuugaguu uaaauagaa 19

<210> 331
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 331
uucuauuuaa acucaaauu 19

<210> 332
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 332
aguuuaaaua gaaacauga 19

<210> 333
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 333
ucauguuucu auuuaaacu 19

<210> 334
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 334
uaaauagaaa caugauaaa 19

<210> 335
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 335
uuuaucaugu uucuauuua 19

<210> 336
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 336

gaaacaugau aaaugcaag 19

<210> 337
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 337
cuugcauuua ucauguuuc 19

<210> 338
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 338
gauaaaugca agaaagaaa 19

<210> 339
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 339
uuucuuucuu gcauuuauc 19

<210> 340
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 340
aaaugcaaga aagaaaaca 19

<210> 341
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 341
uguuuucuuu cuugcauuu 19

<210> 342
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 342
caagaaagaa aacauuuug 19

<210> 343
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 343
caaaauguuu ucuuucuug 19

<210> 344
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 344
agaaaacauu uugauuuua 19

<210> 345
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 345
uaaaaucaaa auguuuucu 19

<210> 346
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 346
cauuuugauu uuaacucau 19

<210> 347

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 347
augaguuaaa aucaaaaug 19

<210> 348
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 348
gauuuuaacu cauugucac 19

<210> 349
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 349
gugacaauga guuaaaauc 19

<210> 350
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 350
auuuuaacuc auugucacu 19

<210> 351
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 351
agugacaaug aguuaaaau 19

<210> 352
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 352
cauugucacu cugauguuc 19

<210> 353
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 353
gaacaucaga gugacaaug 19

<210> 354
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 354
uugucacucu gauguucau 19

<210> 355
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 355
augaacauca gagugacaa 19

<210> 356
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 356
cucugauguu caugugaac 19

<210> 357
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 357
guucacauga acaucagag 19

<210> 358
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 358
gauguucaug ugaacuggu 19

<210> 359
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 359
accaguucac augaacauc 19

<210> 360
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 360

caugugaacu gguugcuuc 19

<210> 361
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 361
gaagcaacca guucacaug 19

<210> 362
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 362
acugguugcu ucgggcucu 19

<210> 363
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 363
agagcccgaa gcaaccagu 19

<210> 364
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 364
guugcuucgg gcucuuuga 19

<210> 365
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 365
ucaaagagcc cgaagcaac 19

<210> 366
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 366
gcuucgggcu cuuugaucu 19

<210> 367
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 367
agaucaaaga gcccgaagc 19

<210> 368
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 368
cgggcucuuu gaucuguca 19

<210> 369
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 369
ugacagauca aagagcccg 19

<210> 370
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 370
ucuuugaucu gucaccuau 19

<210> 371

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 371
auaggugaca gaucaaaga 19

<210> 372
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 372
gaucugucac cuauggaau 19

<210> 373
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 373
auuccauagg ugacagauc 19

<210> 374
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 374
caccuaugga aucugagug 19

<210> 375
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 375
cacucagauu ccauaggug 19

<210> 376
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 376
ggaaucugag ugguuuuau 19

<210> 377
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 377
auaaaaccac ucagauucc 19

<210> 378
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 378
cugagugguu uuauuuuuu 19

<210> 379
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 379
aaaaaauaaa accacucag 19

<210> 380
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 380
gagugguuuu auuuuuuag 19

<210> 381
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 381
cuaaaaaaua aaaccacuc 19

<210> 382
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 382
gguuuuauuu uuuagauuu 19

<210> 383
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 383
aaaucuaaaa aauaaaacc 19

<210> 384
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 384

auuuuuuaga uuucucagu 19

<210> 385
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 385
acugagaaau cuaaaaaau 19

<210> 386
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 386
uagauuucuc agucccaaa 19

<210> 387
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 387
uuugggacug agaaaucua 19

<210> 388
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 388
cucaguccca aagaucuaa 19

<210> 389
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 389
uuagaucuuu gggacugag 19

<210> 390
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 390
ucccaaagau cuaagauaa 19

<210> 391
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 391
uuaucuuaga ucuuuggga 19

<210> 392
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 392
caaagaucua agauaaaua 19

<210> 393
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 393
uauuuaucuu agaucuuug 19

<210> 394
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 394
cuaagauaaa uaaacaaga 19

<210> 395

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 395
ucuuguuuau uuaucuuag 19

<210> 396
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 396
aagauaaaua aacaagaga 19

<210> 397
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 397
ucucuuguuu auuuaucuu 19

<210> 398
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 398
auuaagccaa uuaaguauaa a 21

<210> 399
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 399
uuuauacuua auuggcuuaa ugu 23

<210> 400
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 400
cauuaagcca auuaaguaua a 21

<210> 401
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 401
uuauacuuaa uuggcuuaau gua 23

<210> 402
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 402
cuacauuaag ccaauuaagu a 21

<210> 403
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 403
uacuuaauug gcuuaaugua gaa 23

<210> 404
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 404
uacauuaagc caauuaagua u 21

<210> 405
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 405
auacuuaauu ggcuuaaugu aga 23

<210> 406
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 406
acauuaagcc aauuaaguau a 21

<210> 407
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 407
uauacuuaau uggcuuaaug uag 23

<210> 408
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 408

uguggacagu acucugcuca a 21

<210> 409
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 409
uugagcagag uacuguccac agc 23

<210> 410
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 410
aagccaauua aguauaaagg u 21

<210> 411
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 411
accuuuauac uuaauuggcu uaa 23

<210> 412
<211> 21
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 412
uuaagccaau uaaguauaaa g 21

<210> 413
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 413
cuuuauacuu aauuggcuua aug 23

<210> 414
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 414
ggcuguggac aguacucugc u 21

<210> 415
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 415
agcagaguac uguccacagc cau 23

<210> 416
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 416
cuguggacag uacucugcuc a 21

<210> 417
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 417
ugagcagagu acuguccaca gcc 23

<210> 418
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 418
guggacagua cucugcucaa a 21

<210> 419

<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 419
uuugagcaga guacugucca cag 23

<210> 420
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 420
gcuguggaca guacucugcu c 21

<210> 421
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 421
gagcagagua cuguccacag cca 23

<210> 422
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 422
uaagccaauu aaguauaaag g 21

<210> 423
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 423
ccuuuauacu uaauuggcuu aau 23

<210> 424
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 424
gacaguacuc ugcucaaaga a 21

<210> 425
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 425
uucuuugagc agaguacugu cca 23

<210> 426
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 426
ggacaguacu cugcucaaag a 21

<210> 427
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 427
ucuuugagca gaguacuguc cac 23

<210> 428
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 428
uggacaguac ucugcucaaa g 21

<210> 429
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 429
cuuugagcag aguacugucc aca 23

<210> 430
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 430
uuaagccaau uaaguauaaa u 21

<210> 431
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 431
auuuauacuu aauuggcuua aug 23

<210> 432
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 432

gcuguggaca guacucugcu a 21

<210> 433
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 433
uagcagagua cuguccacag cca 23

<210> 434
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 434
uaagccaauu aaguauaaag a 21

<210> 435
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 435
ucuuuauacu uaauuggcuu aau 23

<210> 436
<211> 21
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 436
uggacaguac ucugcucaaa u 21

<210> 437
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 437
auuugagcag aguacugucc aca 23

<210> 438
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 438
agccaauuaa guauaaaggu a 21

<210> 439
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 439
uaccuuuaua cuuaauuggc uua 23

<210> 440
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 440
agccaauuaa guauaaaggu c 21

<210> 441
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 441
gaccuuuaua cuuaauuggc uua 23

<210> 442
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 442
ucuacauuaa gccaauuaag u 21

<210> 443

<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 443
acuuaauugg cuuaauguag aac 23

<210> 444
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 444
uucuacauua agccaauuaa g 21

<210> 445
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 445
cuuaauuggc uuaauguaga aca 23

<210> 446
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 446
guucuacauu aagccaauua a 21

<210> 447
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 447
uuaauuggcu uaauguagaa cau 23

<210> 448
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 448
uguucuacau uaagccaauu a 21

<210> 449
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 449
uaauuggcuu aauguagaac auu 23

<210> 450
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 450
cauggcugug gacaguacuc u 21

<210> 451
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 451
agaguacugu ccacagccau ggc 23

<210> 452
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 452
uggcugugga caguacucug c 21

<210> 453
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 453
gcagaguacu guccacagcc aug 23

<210> 454
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 454
uucuacauua agccaauuaa a 21

<210> 455
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 455
uuuaauuggc uuaauguaga aca 23

<210> 456
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 456

uggcugugga caguacucug a 21

<210> 457
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 457
ucagaguacu guccacagcc aug 23

<210> 458
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 458
gcuaauauau gugcuggcaa a 21

<210> 459
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 459
uuugccagca cauauauuag ccc 23

<210> 460
<211> 21
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 460
gcccuugcag aaaguuuauc a 21

<210> 461
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 461
ugauaaacuu ucugcaaggg caa 23

<210> 462
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 462
uugaauauuc uucaaagaga a 21

<210> 463
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 463
uucucuuuga agaauauuca agu 23

<210> 464
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 464
gcuaauauau gugcuggcaa g 21

<210> 465
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 465
cuugccagca cauauauuag ccc 23

<210> 466
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 466
auucauucaa acuugaauau u 21

<210> 467

<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 467
aauauucaag uuugaaugaa uac 23

<210> 468
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 468
agcuaggaag uauucauuca a 21

<210> 469
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 469
uugaaugaau acuuccuagc uau 23

<210> 470
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 470
caauggucag aucuucaaaa u 21

<210> 471
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 471
auuuugaaga ucugaccauu ggc 23

<210> 472
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 472
uggucagauc uucaaaauaa a 21

<210> 473
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 473
uuuauuuuga agaucugacc auu 23

<210> 474
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 474
ccaggagaaa ccuuaucaaa a 21

<210> 475
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 475
uuuugauaag guuucuccug gcc 23

<210> 476
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 476
cccuugcaga aaguuuaucc u 21

<210> 477
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 477
aggauaaacu uucugcaagg gca 23

<210> 478
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 478
uucaaacuug aauauucuuc a 21

<210> 479
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 479
ugaagaauau ucaaguuuga aug 23

<210> 480
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 480

uagcuaggaa guauucauuc a 21

<210> 481
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 481
ugaaugaaua cuuccuagcu auu 23

<210> 482
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 482
gcccuugcag aaaguuuauc c 21

<210> 483
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 483
ggauaaacuu ucugcaaggg caa 23

<210> 484
<211> 21
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 484
uugaauauuc uucaaagaga g 21

<210> 485
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 485
cucucuuuga agaauauuca agu 23

<210> 486
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 486
ccaaugguca gaucuucaaa a 21

<210> 487
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 487
uuuugaagau cugaccauug gcc 23

<210> 488
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 488
aauggucaga ucuucaaaau a 21

<210> 489
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 489
uauuuugaag aucugaccau ugg 23

<210> 490
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 490
ugugggccag gagaaaccuu a 21

<210> 491

<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 491
uaagguuucu ccuggcccac aau 23

<210> 492
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 492
gacaucuugu gcucugcugg a 21

<210> 493
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 493
uccagcagag cacaagaugu cca 23

<210> 494
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Sonda sintética"

<400> 494
gcatcctggg ctacactga 19

<210> 495
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Sonda sintética"

<400> 495
tgggtgtcgc tgttgaagtc 20

<210> 496
<211> 16
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Sonda sintética"

<400> 496
ccaggtggtc tcctcc 16

<210> 497
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 497
uagcuaggaa guauucauuc a 21

<210> 498
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 498
ugaaugaaua cuuccuagcu auu 23

<210> 499
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 499
agcuaggaag uauucauuca a 21

<210> 500
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 500
uugaaugaau acuuccuagc uau 23

<210> 501
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 501
auucauucaa acuugaauau u 21

<210> 502
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 502
aauauucaag uuugaaugaa uac 23

<210> 503
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 503
uucaaacuug aauauucuuc a 21

<210> 504
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 504

ugaagaauau ucaaguuuga aug 23

<210> 505
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 505
uugaauauuc uucaaagaga g 21

<210> 506
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 506
cucucuuuga agaauauuca agu 23

<210> 507
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 507
uugaauauuc uucaaagaga a 21

<210> 508
<211> 23
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 508
uucucuuuga agaauauuca agu 23

<210> 509
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 509
gcuaauauau gugcuggcaa g 21

<210> 510
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 510
cuugccagca cauauauuag ccc 23

<210> 511
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 511
gcuaauauau gugcuggcaa a 21

<210> 512
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 512
uuugccagca cauauauuag ccc 23

<210> 513
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 513
cauggcugug gacaguacuc u 21

<210> 514
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 514
agaguacugu ccacagccau ggc 23

<210> 515

<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 515
uggcugugga caguacucug c 21

<210> 516
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 516
gcagaguacu guccacagcc aug 23

<210> 517
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 517
uggcugugga caguacucug a 21

<210> 518
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 518
ucagaguacu guccacagcc aug 23

<210> 519
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 519
ggcuguggac aguacucugc u 21

<210> 520
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 520
agcagaguac uguccacagc cau 23

<210> 521
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 521
gcuguggaca guacucugcu c 21

<210> 522
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 522
gagcagagua cuguccacag cca 23

<210> 523
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 523
gcuguggaca guacucugcu a 21

<210> 524
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 524
uagcagagua cuguccacag cca 23

<210> 525
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 525
cuguggacag uacucugcuc a 21

<210> 526
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 526
ugagcagagu acuguccaca gcc 23

<210> 527
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 527
uguggacagu acucugcuca a 21

<210> 528
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 528

uugagcagag uacuguccac agc 23

<210> 529
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 529
guggacagua cucugcucaa a 21

<210> 530
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 530
uuugagcaga guacugucca cag 23

<210> 531
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 531
uggacaguac ucugcucaaa g 21

<210> 532
<211> 23
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 532
cuuugagcag aguacugucc aca 23

<210> 533
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 533
uggacaguac ucugcucaaa u 21

<210> 534
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 534
auuugagcag aguacugucc aca 23

<210> 535
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 535
ggacaguacu cugcucaaag a 21

<210> 536
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 536
ucuuugagca gaguacuguc cac 23

<210> 537
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 537
gacaguacuc ugcucaaaga a 21

<210> 538
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 538
uucuuugagc agaguacugu cca 23

<210> 539

<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 539
ugugggccag gagaaaccuu a 21

<210> 540
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 540
uaagguuucu ccuggcccac aau 23

<210> 541
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 541
ccaggagaaa ccuuaucaaa a 21

<210> 542
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 542
uuuugauaag guuucuccug gcc 23

<210> 543
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 543
uguucuacau uaagccaauu a 21

<210> 544
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 544
uaauuggcuu aauguagaac auu 23

<210> 545
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 545
guucuacauu aagccaauua a 21

<210> 546
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 546
uuaauuggcu uaauguagaa cau 23

<210> 547
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 547
uucuacauua agccaauuaa g 21

<210> 548
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 548
cuuaauuggc uuaauguaga aca 23

<210> 549
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 549
uucuacauua agccaauuaa a 21

<210> 550
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 550
uuuaauuggc uuaauguaga aca 23

<210> 551
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 551
ucuacauuaa gccaauuaag u 21

<210> 552
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 552

acuuaauugg cuuaauguag aac 23

<210> 553
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 553
cuacauuaag ccaauuaagu a 21

<210> 554
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 554
uacuuaauug gcuuaaugua gaa 23

<210> 555
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 555
uacauuaagc caauuaagua u 21

<210> 556
<211> 23
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 556
auacuuaauu ggcuuaaugu aga 23

<210> 557
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 557
acauuaagcc aauuaaguau a 21

<210> 558
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 558
uauacuuaau uggcuuaaug uag 23

<210> 559
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 559
cauuaagcca auuaaguaua a 21

<210> 560
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 560
uuauacuuaa uuggcuuaau gua 23

<210> 561
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 561
auuaagccaa uuaaguauaa a 21

<210> 562
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 562
uuuauacuua auuggcuuaa ugu 23

<210> 563

<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 563
uuaagccaau uaaguauaaa g 21

<210> 564
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 564
cuuuauacuu aauuggcuua aug 23

<210> 565
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 565
uuaagccaau uaaguauaaa u 21

<210> 566
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 566
auuuauacuu aauuggcuua aug 23

<210> 567
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 567
uaagccaauu aaguauaaag g 21

<210> 568
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 568
ccuuuauacu uaauuggcuu aau 23

<210> 569
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 569
uaagccaauu aaguauaaag a 21

<210> 570
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 570
ucuuuauacu uaauuggcuu aau 23

<210> 571
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 571
aagccaauua aguauaaagg u 21

<210> 572
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 572
accuuuauac uuaauuggcu uaa 23

<210> 573
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 573
agccaauuaa guauaaaggu c 21

<210> 574
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 574
gaccuuuaua cuuaauuggc uua 23

<210> 575
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 575
agccaauuaa guauaaaggu a 21

<210> 576
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 576

uaccuuuaua cuuaauuggc uua 23

<210> 577
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 577
gcccuugcag aaaguuuauc c 21

<210> 578
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 578
ggauaaacuu ucugcaaggg caa 23

<210> 579
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 579
gcccuugcag aaaguuuauc a 21

<210> 580
<211> 23
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 580
ugauaaacuu ucugcaaggg caa 23

<210> 581
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 581
cccuugcaga aaguuuaucc u 21

<210> 582
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 582
aggauaaacu uucugcaagg gca 23

<210> 583
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 583
ccaaugguca gaucuucaaa a 21

<210> 584
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 584
uuuugaagau cugaccauug gcc 23

<210> 585
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 585
caauggucag aucuucaaaa u 21

<210> 586
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 586
auuuugaaga ucugaccauu ggc 23

<210> 587

<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 587
aauggucaga ucuucaaaau a 21

<210> 588
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 588
uauuuugaag aucugaccau ugg 23

<210> 589
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 589
uggucagauc uucaaaauaa a 21

<210> 590
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 590
uuuauuuuga agaucugacc auu 23

<210> 591
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 591
uagcuaggaa guauucauuc a 21

<210> 592
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 592
ugaaugaaua cuuccuagcu auu 23

<210> 593
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 593
agcuaggaag uauucauuca a 21

<210> 594
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 594
uugaaugaau acuuccuagc uau 23

<210> 595
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 595
auucauucaa acuugaauau u 21

<210> 596
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 596
aauauucaag uuugaaugaa uac 23

<210> 597
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 597
uucaaacuug aauauucuuc a 21

<210> 598
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 598
ugaagaauau ucaaguuuga aug 23

<210> 599
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 599
uugaauauuc uucaaagaga g 21

<210> 600
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 600

cucucuuuga agaauauuca agu 23

<210> 601
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 601
uugaauauuc uucaaagaga a 21

<210> 602
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 602
uucucuuuga agaauauuca agu 23

<210> 603
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 603
gcuaauauau gugcuggcaa g 21

<210> 604
<211> 23
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 604
cuugccagca cauauauuag ccc 23

<210> 605
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 605
gcuaauauau gugcuggcaa a 21

<210> 606
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 606
uuugccagca cauauauuag ccc 23

<210> 607
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 607
cauggcugug gacaguacuc u 21

<210> 608
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 608
agaguacugu ccacagccau ggc 23

<210> 609
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 609
uggcugugga caguacucug c 21

<210> 610
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 610
gcagaguacu guccacagcc aug 23

<210> 611

<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 611
uggcugugga caguacucug a 21

<210> 612
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 612
ucagaguacu guccacagcc aug 23

<210> 613
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 613
ggcuguggac aguacucugc u 21

<210> 614
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 614
agcagaguac uguccacagc cau 23

<210> 615
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 615
gcuguggaca guacucugcu c 21

<210> 616
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 616
gagcagagua cuguccacag cca 23

<210> 617
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 617
gcuguggaca guacucugcu a 21

<210> 618
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 618
uagcagagua cuguccacag cca 23

<210> 619
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 619
cuguggacag uacucugcuc a 21

<210> 620
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 620
ugagcagagu acuguccaca gcc 23

<210> 621
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 621
uguggacagu acucugcuca a 21

<210> 622
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 622
uugagcagag uacuguccac agc 23

<210> 623
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 623
guggacagua cucugcucaa a 21

<210> 624
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 624

uuugagcaga guacugucca cag 23

<210> 625
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 625
uggacaguac ucugcucaaa g 21

<210> 626
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 626
cuuugagcag aguacugucc aca 23

<210> 627
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 627
uggacaguac ucugcucaaa u 21

<210> 628
<211> 23
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 628
auuugagcag aguacugucc aca 23

<210> 629
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 629
ggacaguacu cugcucaaag a 21

<210> 630
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 630
ucuuugagca gaguacuguc cac 23

<210> 631
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 631
gacaguacuc ugcucaaaga a 21

<210> 632
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 632
uucuuugagc agaguacugu cca 23

<210> 633
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 633
ugugggccag gagaaaccuu a 21

<210> 634
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 634
uaagguuucu ccuggcccac aau 23

<210> 635

<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 635
ccaggagaaa ccuuaucaaa a 21

<210> 636
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 636
uuuugauaag guuucuccug gcc 23

<210> 637
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 637
uguucuacau uaagccaauu a 21

<210> 638
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 638
uaauuggcuu aauguagaac auu 23

<210> 639
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 639
guucuacauu aagccaauua a 21

<210> 640
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 640
uuaauuggcu uaauguagaa cau 23

<210> 641
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 641
uucuacauua agccaauuaa g 21

<210> 642
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 642
cuuaauuggc uuaauguaga aca 23

<210> 643
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 643
uucuacauua agccaauuaa a 21

<210> 644
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 644
uuuaauuggc uuaauguaga aca 23

<210> 645
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 645
ucuacauuaa gccaauuaag u 21

<210> 646
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 646
acuuaauugg cuuaauguag aac 23

<210> 647
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 647
cuacauuaag ccaauuaagu a 21

<210> 648
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 648

uacuuaauug gcuuaaugua gaa 23

<210> 649
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 649
uacauuaagc caauuaagua u 21

<210> 650
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 650
auacuuaauu ggcuuaaugu aga 23

<210> 651
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 651
acauuaagcc aauuaaguau a 21

<210> 652
<211> 23
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 652
uauacuuaau uggcuuaaug uag 23

<210> 653
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 653
cauuaagcca auuaaguaua a 21

<210> 654
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 654
uuauacuuaa uuggcuuaau gua 23

<210> 655
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 655
auuaagccaa uuaaguauaa a 21

<210> 656
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 656
uuuauacuua auuggcuuaa ugu 23

<210> 657
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 657
uuaagccaau uaaguauaaa g 21

<210> 658
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 658
cuuuauacuu aauuggcuua aug 23

<210> 659

<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 659
uuaagccaau uaaguauaaa u 21

<210> 660
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 660
auuuauacuu aauuggcuua aug 23

<210> 661
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 661
uaagccaauu aaguauaaag g 21

<210> 662
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 662
ccuuuauacu uaauuggcuu aau 23

<210> 663
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 663
uaagccaauu aaguauaaag a 21

<210> 664
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 664
ucuuuauacu uaauuggcuu aau 23

<210> 665
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 665
aagccaauua aguauaaagg u 21

<210> 666
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 666
accuuuauac uuaauuggcu uaa 23

<210> 667
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 667
agccaauuaa guauaaaggu c 21

<210> 668
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 668
gaccuuuaua cuuaauuggc uua 23

<210> 669
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 669
agccaauuaa guauaaaggu a 21

<210> 670
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 670
uaccuuuaua cuuaauuggc uua 23

<210> 671
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 671
gcccuugcag aaaguuuauc c 21

<210> 672
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 672

ggauaaacuu ucugcaaggg caa 23

<210> 673
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 673
gcccuugcag aaaguuuauc a 21

<210> 674
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 674
ugauaaacuu ucugcaaggg caa 23

<210> 675
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 675
cccuugcaga aaguuuaucc u 21

<210> 676
<211> 23
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 676
aggauaaacu uucugcaagg gca 23

<210> 677
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 677
ccaaugguca gaucuucaaa a 21

<210> 678
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 678
uuuugaagau cugaccauug gcc 23

<210> 679
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 679
caauggucag aucuucaaaa u 21

<210> 680
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 680
auuuugaaga ucugaccauu ggc 23

<210> 681
<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 681
aauggucaga ucuucaaaau a 21

<210> 682
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 682
uauuuugaag aucugaccau ugg 23

<210> 683

<211> 21
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 683
uggucagauc uucaaaauaa a 21

<210> 684
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 684
uuuauuuuga agaucugacc auu 23

<210> 685
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Péptido sintético"

<400> 685
Ala Ala Val Ala Leu Leu Pro Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Ala Pro
1 5 10 15

<210> 686
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Péptido sintético"

<400> 686
Ala Ala Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro
1 5 10

<210> 687
<211> 13
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<400> 687
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln
1 5 10

<210> 688
<211> 16
<212> PRT
<213> Drosophila sp.

<400> 688
Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 689

<400> 689
000

<210> 690
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:

Oligonucleótido sintético”

<400> 690
gaauauuaga acuugacuut t 21

<210> 691
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 691
aagucaaguu cuaauauuct t 21

<210> 692
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 692
aacuugacuu gcuccaucct t 21

<210> 693
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 693
ggauggagca agucaaguut t 21

<210> 694
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 694
ccauccucuu aaacuuuuut t 21

<210> 695
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 695
aaaaaguuua agaggauggt t 21

<210> 696
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 696
uaaacuuuuu gugucucact t 21

<210> 697
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 697
gugagacaca aaaaguuuat t 21

<210> 698
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 698
gucucacacu aaagaaaugt t 21

<210> 699
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 699
cauuucuuua gugugagact t 21

<210> 700
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 700
aaagaaauga gagaugcagt t 21

<210> 701
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 701
cugcaucucu cauuucuuut t 21

<210> 702
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 702
augcagaauu cuaaggcuat t 21

<210> 703
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 703
uagccuuaga auucugcaut t 21

<210> 704
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 704
ucuaaggcua aauagcuagt t 21

<210> 705
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 705

cuagcuauuu agccuuagat t 21

<210> 706
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 706
auagcuagga aguauucaut t 21

<210> 707
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 707
augaauacuu ccuagcuaut t 21

<210> 708
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 708
auucauucaa acuugaauat t 21

<210> 709
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 709
uauucaaguu ugaaugaaut t 21

<210> 710
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 710
cuugaauauu cuucaaagat t 21

<210> 711
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 711
ucuuugaaga auauucaagt t 21

<210> 712
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 712
cuucaaagag agugugggt t 21

<210> 713
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:

Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 713
ccccacacuc ucuuugaagt t 21

<210> 714
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 714
gugugggggc aacucuaaut t 21

<210> 715
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 715
auuagaguug cccccacact t 21

<210> 716
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 716
aacucuaauc agaggaagat t 21

<210> 717
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 717
ucuuccucug auuagaguut t 21

<210> 718
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 718
aggaagaaac uaaaggaagt t 21

<210> 719
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 719
cuuccuuuag uuucuuccut t 21

<210> 720
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 720
uaaaggaagu aaaaccagat t 21

<210> 721
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 721
ucugguuuua cuuccuuuat t 21

<210> 722
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 722
aaaccagaug uuuuccacct t 21

<210> 723
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 723
gguggaaaac aucugguuut t 21

<210> 724
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 724
uccaccaaag cccuccuuut t 21

<210> 725
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 725
aaaggagggc uuugguggat t 21

<210> 726

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

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 726
ccuccuuuug gcuggucugt t 21

<210> 727
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 727
cagaccagcc aaaaggaggt t 21

<210> 728
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 728
ggcuggucug auuucuacct t 21

<210> 729
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 729
gguagaaauc agaccagcct t 21

<210> 730
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 730
uuucuaccgc acuggcaggt t 21

<210> 731
<211> 21

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 731
ccugccagug cgguagaaat t 21

<210> 732
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 732
ggcagggcca ugggcuaaut t 21

<210> 733
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 733
auuagcccau ggcccugcct t 21

<210> 734
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 734
gggcuaauau augugcuggt t 21

<210> 735
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 735
ccagcacaua uauuagccct t 21

<210> 736
<211> 21
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 736
augugcuggc aagucuucct t 21

<210> 737
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 737
ggaagacuug ccagcacaut t 21

<210> 738
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:

Oligonucleótido sintético”

<400> 738
aagucuucca augagaucct t 21

<210> 739
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 739
ggaucucauu ggaagacuut t 21

<210> 740
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 740
agauccggac gugugaccgt t 21

<210> 741
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 741
cggucacacg uccggaucut t 21

<210> 742
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 742
gugugaccgc cauggcugut t 21

<210> 743
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 743
acagccaugg cggucacact t 21

<210> 744
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 744
auggcugugg acaguacuct t 21

<210> 745
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 745
gaguacuguc cacagccaut t 21

<210> 746
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 746
aguacucugc ucaaagaagt t 21

<210> 747
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 747
cuucuuugag cagaguacut t 21

<210> 748
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 748
caaagaaguc agaggccuct t 21

<210> 749
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 749
gaggccucug acuucuuugt t 21

<210> 750
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 750
cagaggccuc accagggugt t 21

<210> 751
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 751
cacccuggug aggccucugt t 21

<210> 752
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 752
ccagggugug gacaucuugt t 21

<210> 753
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 753

caagaugucc acacccuggt t 21

<210> 754
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 754
acaucuugug cucugcuggt t 21

<210> 755
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 755
ccagcagagc acaagaugut t 21

<210> 756
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 756
cugcuggauc uacuguguat t 21

<210> 757
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 757
uacacaguag auccagcagt t 21

<210> 758
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 758
cuguguacgc accauucact t 21

<210> 759
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 759
gugaauggug cguacacagt t 21

<210> 760
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 760
ccauucacug gaaugauugt t 21

<210> 761
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:

Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 761
caaucauucc agugaauggt t 21

<210> 762
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 762
aaugauugug ggccaggagt t 21

<210> 763
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 763
cuccuggccc acaaucauut t 21

<210> 764
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 764
gggccaggag aaaccuuaut t 21

<210> 765
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 765
auaagguuuc uccuggccct t 21

<210> 766
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 766
ccuuaucaaa acaagaaugt t 21

<210> 767
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 767
cauucuuguu uugauaaggt t 21

<210> 768
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 768
caagaaugcu aucaauaaut t 21

<210> 769
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 769
auuauugaua gcauucuugt t 21

<210> 770
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 770
aucaauaaug guguucgaat t 21

<210> 771
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 771
uucgaacacc auuauugaut t 21

<210> 772
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 772
guucgaauau cuggaagagt t 21

<210> 773
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 773
cucuuccaga uauucgaact t 21

<210> 774

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

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 774
ucuggaagag guuuuugugt t 21

<210> 775
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 775
cacaaaaacc ucuuccagat t 21

<210> 776
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 776
uuuuuguguc aaaauguuct t 21

<210> 777
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 777
gaacauuuug acacaaaaat t 21

<210> 778
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 778
auguucuaca uuaagccaat t 21

<210> 779
<211> 21

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 779
uuggcuuaau guagaacaut t 21

<210> 780
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 780
uaagccaauu aaguauaaat t 21

<210> 781
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 781
uuuauacuua auuggcuuat t 21

<210> 782
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 782
aaguauaaag guccuauuat t 21

<210> 783
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 783
uaauaggacc uuuauacuut t 21

<210> 784
<211> 21
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 784
ccuauuaaga agggagaaat t 21

<210> 785
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 785
uuucucccuu cuuaauaggt t 21

<210> 786
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:

Oligonucleótido sintético”

<400> 786
agggagaaaa acuuggaact t 21

<210> 787
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 787
guuccaaguu uuucucccut t 21

<210> 788
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 788
cuuggaacuc uauugcccut t 21

<210> 789
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 789
agggcaauag aguuccaagt t 21

<210> 790
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 790
uugcccuugc agaaaguuut t 21

<210> 791
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 791
aaacuuucug caagggcaat t 21

<210> 792
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 792
agaaaguuua uccuggcaut t 21

<210> 793
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 793
augccaggau aaacuuucut t 21

<210> 794
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 794
ccuggcauac aaucgcaugt t 21

<210> 795
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 795
caugcgauug uaugccaggt t 21

<210> 796
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 796
aucgcaugug cacauugaat t 21

<210> 797
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 797
uucaaugugc acaugcgaut t 21

<210> 798
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 798
cauugaaaac ugugacucgt t 21

<210> 799
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 799
cgagucacag uuuucaaugt t 21

<210> 800
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 800
gugacucgag ugacccuact t 21

<210> 801
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 801

guagggucac ucgagucact t 21

<210> 802
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 802
ugacccuacu gcauaccugt t 21

<210> 803
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 803
cagguaugca guagggucat t 21

<210> 804
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 804
cauaccugua aaucgaaggt t 21

<210> 805
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 805
ccuucgauuu acagguaugt t 21

<210> 806
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 806
uggucagauc uucaaaauat t 21

<210> 807
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 807
uauuuugaag aucugaccat t 21

<210> 808
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 808
cuucaaaaua aaaagucaut t 21

<210> 809
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:

Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 809
augacuuuuu auuuugaagt t 21

<210> 810
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 810
aagucaucuu aaaaaccugt t 21

<210> 811
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 811
cagguuuuua agaugacuut t 21

<210> 812
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 812
aaaaccugga ugcauaccct t 21

<210> 813
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 813
ggguaugcau ccagguuuut t 21

<210> 814
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 814
gcauacccuu cucuucaagt t 21

<210> 815
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 815
cuugaagaga aggguaugct t 21

<210> 816
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 816
cuucaagaaa uuuguguuct t 21

<210> 817
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 817
gaacacaaau uucuugaagt t 21

<210> 818
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 818
uuguguucac aaaggaaaat t 21

<210> 819
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 819
uuuuccuuug ugaacacaat t 21

<210> 820
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 820
aaggaaaaau gcaugaaggt t 21

<210> 821
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 821
ccuucaugca uuuuuccuut t 21

<210> 822

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

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 822
ugcaugaagg gauggauact t 21

<210> 823
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 823
guauccaucc cuucaugcat t 21

<210> 824
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 824
uggauacccc auuuuccaut t 21

<210> 825
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 825
auggaaaaug ggguauccat t 21

<210> 826
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 826
uuuccaugac augauuauut t 21

<210> 827
<211> 21

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 827
aauaaucaug ucauggaaat t 21

<210> 828
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 828
caugauuauu acacauugct t 21

<210> 829
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 829
gcaaugugua auaaucaugt t 21

<210> 830
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 830
cacauugcau gccuguauct t 21

<210> 831
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 831
gauacaggca ugcaaugugt t 21

<210> 832
<211> 21
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 832
ccuguaucaa aacaucucat t 21

<210> 833
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 833
ugagauguuu ugauacaggt t 21

<210> 834
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:

Oligonucleótido sintético”

<400> 834
caucucacgu accucauaat t 21

<210> 835
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 835
uuaugaggua cgugagaugt t 21

<210> 836
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 836
ccucauaaac auauacacct t 21

<210> 837
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 837
gguguauaug uuuaugaggt t 21

<210> 838
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 838
auacaccuau guacccacat t 21

<210> 839
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 839
uguggguaca uagguguaut t 21

<210> 840
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 840
guacccacaa aaauuuuuut t 21

<210> 841
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 841
aaaaaauuuu uguggguact t 21

<210> 842
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 842
uaaaaaaagg aaauuugagt t 21

<210> 843
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 843
cucaaauuuc cuuuuuuuat t 21

<210> 844
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 844
aauuugaguu uaaauagaat t 21

<210> 845
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 845
uucuauuuaa acucaaauut t 21

<210> 846
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 846
auagaaacau gauaaaugct t 21

<210> 847
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 847
gcauuuauca uguuucuaut t 21

<210> 848
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 848
gauaaaugca agaaagaaat t 21

<210> 849
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 849

uuucuuucuu gcauuuauct t 21

<210> 850
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 850
gaaagaaaac auuuugauut t 21

<210> 851
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 851
aaucaaaaug uuuucuuuct t 21

<210> 852
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 852
acucauuguc acucugaugt t 21

<210> 853
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 853
caucagagug acaaugagut t 21

<210> 854
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 854
cucugauguu caugugaact t 21

<210> 855
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 855
guucacauga acaucagagt t 21

<210> 856
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 856
caugugaacu gguugcuuct t 21

<210> 857
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:

Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 857
gaagcaacca guucacaugt t 21

<210> 858
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 858
guugcuucgg gcucuuugat t 21

<210> 859
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético”

<220>
<221> fuente
<223> /nota=“Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético”

<400> 859
ucaaagagcc cgaagcaact t 21

<210> 860
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 860
ucuuugaucu gucaccuaut t 21

<210> 861
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 861
auaggugaca gaucaaagat t 21

<210> 862
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 862
caccuaugga aucugagugt t 21

<210> 863
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 863
cacucagauu ccauaggugt t 21

<210> 864
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 864
aaucugagug guuuuauuut t 21

<210> 865
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 865
aaauaaaacc acucagauut t 21

<210> 866
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 866
uuuuuuagau uucucaguct t 21

<210> 867
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 867
gacugagaaa ucuaaaaaat t 21

<210> 868
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 868
cucaguccca aagaucuaat t 21

<210> 869
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 869
uuagaucuuu gggacugagt t 21

<210> 870

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

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 870
gaucuaagau aaauaaacat t 21

<210> 871
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la molécula de ADN/ARN combinada:
Oligonucleótido sintético"

<400> 871
uguuuauuua ucuuagauct t 21

<210> 872
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 872

gaauauuaga acuugacuu 19

<210> 873
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 873
aagucaaguu cuaauauuc 19

<210> 874
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 874
aacuugacuu gcuccaucc 19

<210> 875
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 875
ggauggagca agucaaguu 19

<210> 876
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 876
ccauccucuu aaacuuuuu 19

<210> 877
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 877
aaaaaguuua agaggaugg 19

<210> 878
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 878
uaaacuuuuu gugucucac 19

<210> 879
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 879
gugagacaca aaaaguuua 19

<210> 880
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 880
gucucacacu aaagaaaug 19

<210> 881
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 881
cauuucuuua gugugagac 19

<210> 882
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 882
aaagaaauga gagaugcag 19

<210> 883

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 883
cugcaucucu cauuucuuu 19

<210> 884
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 884
augcagaauu cuaaggcua 19

<210> 885
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 885
uagccuuaga auucugcau 19

<210> 886
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 886
ucuaaggcua aauagcuag 19

<210> 887
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 887
cuagcuauuu agccuuaga 19

<210> 888
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 888
auagcuagga aguauucau 19

<210> 889
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 889
augaauacuu ccuagcuau 19

<210> 890
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 890
auucauucaa acuugaaua 19

<210> 891
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 891
uauucaaguu ugaaugaau 19

<210> 892
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 892
cuugaauauu cuucaaaga 19

<210> 893
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 893
ucuuugaaga auauucaag 19

<210> 894
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 894
cuucaaagag agugugggg 19

<210> 895
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 895
ccccacacuc ucuuugaag 19

<210> 896
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 896

gugugggggc aacucuaau 19

<210> 897
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 897
auuagaguug cccccacac 19

<210> 898
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 898
aacucuaauc agaggaaga 19

<210> 899
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 899
ucuuccucug auuagaguu 19

<210> 900
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 900
aggaagaaac uaaaggaag 19

<210> 901
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 901
cuuccuuuag uuucuuccu 19

<210> 902
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 902
uaaaggaagu aaaaccaga 19

<210> 903
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 903
ucugguuuua cuuccuuua 19

<210> 904
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 904
aaaccagaug uuuuccacc 19

<210> 905
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 905
gguggaaaac aucugguuu 19

<210> 906
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 906
uccaccaaag cccuccuuu 19

<210> 907

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 907
aaaggagggc uuuggugga 19

<210> 908
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 908
ccuccuuuug gcuggucug 19

<210> 909
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 909
cagaccagcc aaaaggagg 19

<210> 910
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 910
ggcuggucug auuucuacc 19

<210> 911
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 911
gguagaaauc agaccagcc 19

<210> 912
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 912
uuucuaccgc acuggcagg 19

<210> 913
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 913
ccugccagug cgguagaaa 19

<210> 914
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 914
ggcagggcca ugggcuaau 19

<210> 915
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 915
auuagcccau ggcccugcc 19

<210> 916
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 916
gggcuaauau augugcugg 19

<210> 917
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 917
ccagcacaua uauuagccc 19

<210> 918
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 918
augugcuggc aagucuucc 19

<210> 919
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 919
ggaagacuug ccagcacau 19

<210> 920
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 920

aagucuucca augagaucc 19

<210> 921
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 921
ggaucucauu ggaagacuu 19

<210> 922
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 922
agauccggac gugugaccg 19

<210> 923
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 923
cggucacacg uccggaucu 19

<210> 924
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 924
gugugaccgc cauggcugu 19

<210> 925
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 925
acagccaugg cggucacac 19

<210> 926
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 926
auggcugugg acaguacuc 19

<210> 927
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 927
gaguacuguc cacagccau 19

<210> 928
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 928
aguacucugc ucaaagaag 19

<210> 929
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 929
cuucuuugag cagaguacu 19

<210> 930
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 930
caaagaaguc agaggccuc 19

<210> 931

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 931
gaggccucug acuucuuug 19

<210> 932
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 932
cagaggccuc accagggug 19

<210> 933
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 933
cacccuggug aggccucug 19

<210> 934
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 934
ccagggugug gacaucuug 19

<210> 935
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 935
caagaugucc acacccugg 19

<210> 936
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 936
acaucuugug cucugcugg 19

<210> 937
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 937
ccagcagagc acaagaugu 19

<210> 938
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 938
cugcuggauc uacugugua 19

<210> 939
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 939
uacacaguag auccagcag 19

<210> 940
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 940
cuguguacgc accauucac 19

<210> 941
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 941
gugaauggug cguacacag 19

<210> 942
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 942
ccauucacug gaaugauug 19

<210> 943
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 943
caaucauucc agugaaugg 19

<210> 944
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 944

aaugauugug ggccaggag 19

<210> 945
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 945
cuccuggccc acaaucauu 19

<210> 946
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 946
gggccaggag aaaccuuau 19

<210> 947
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 947
auaagguuuc uccuggccc 19

<210> 948
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 948
ccuuaucaaa acaagaaug 19

<210> 949
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 949
cauucuuguu uugauaagg 19

<210> 950
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 950
caagaaugcu aucaauaau 19

<210> 951
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 951
auuauugaua gcauucuug 19

<210> 952
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 952
aucaauaaug guguucgaa 19

<210> 953
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 953
uucgaacacc auuauugau 19

<210> 954
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 954
guucgaauau cuggaagag 19

<210> 955

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 955
cucuuccaga uauucgaac 19

<210> 956
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 956
ucuggaagag guuuuugug 19

<210> 957
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 957
cacaaaaacc ucuuccaga 19

<210> 958
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 958
uuuuuguguc aaaauguuc 19

<210> 959
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 959
gaacauuuug acacaaaaa 19

<210> 960
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 960
auguucuaca uuaagccaa 19

<210> 961
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 961
uuggcuuaau guagaacau 19

<210> 962
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 962
uaagccaauu aaguauaaa 19

<210> 963
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 963
uuuauacuua auuggcuua 19

<210> 964
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 964
aaguauaaag guccuauua 19

<210> 965
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 965
uaauaggacc uuuauacuu 19

<210> 966
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 966
ccuauuaaga agggagaaa 19

<210> 967
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 967
uuucucccuu cuuaauagg 19

<210> 968
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 968

agggagaaaa acuuggaac 19

<210> 969
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 969
guuccaaguu uuucucccu 19

<210> 970
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 970
cuuggaacuc uauugcccu 19

<210> 971
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 971
agggcaauag aguuccaag 19

<210> 972
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 972
uugcccuugc agaaaguuu 19

<210> 973
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 973
aaacuuucug caagggcaa 19

<210> 974
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 974
agaaaguuua uccuggcau 19

<210> 975
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 975
augccaggau aaacuuucu 19

<210> 976
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 976
ccuggcauac aaucgcaug 19

<210> 977
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 977
caugcgauug uaugccagg 19

<210> 978
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 978
aucgcaugug cacauugaa 19

<210> 979

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 979
uucaaugugc acaugcgau 19

<210> 980
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 980
cauugaaaac ugugacucg 19

<210> 981
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 981
cgagucacag uuuucaaug 19

<210> 982
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 982
gugacucgag ugacccuac 19

<210> 983
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 983
guagggucac ucgagucac 19

<210> 984
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 984
ugacccuacu gcauaccug 19

<210> 985
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 985
cagguaugca guaggguca 19

<210> 986
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 986
cauaccugua aaucgaagg 19

<210> 987
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 987
ccuucgauuu acagguaug 19

<210> 988
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 988
uggucagauc uucaaaaua 19

<210> 989
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 989
uauuuugaag aucugacca 19

<210> 990
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 990
cuucaaaaua aaaagucau 19

<210> 991
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 991
augacuuuuu auuuugaag 19

<210> 992
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 992

aagucaucuu aaaaaccug 19

<210> 993
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 993
cagguuuuua agaugacuu 19

<210> 994
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 994
aaaaccugga ugcauaccc 19

<210> 995
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 995
ggguaugcau ccagguuuu 19

<210> 996
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 996
gcauacccuu cucuucaag 19

<210> 997
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 997
cuugaagaga aggguaugc 19

<210> 998
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 998
cuucaagaaa uuuguguuc 19

<210> 999
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 999
gaacacaaau uucuugaag 19

<210> 1000
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1000
uuguguucac aaaggaaaa 19

<210> 1001
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1001
uuuuccuuug ugaacacaa 19

<210> 1002
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1002
aaggaaaaau gcaugaagg 19

<210> 1003

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1003
ccuucaugca uuuuuccuu 19

<210> 1004
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1004
ugcaugaagg gauggauac 19

<210> 1005
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1005
guauccaucc cuucaugca 19

<210> 1006
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1006
uggauacccc auuuuccau 19

<210> 1007
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1007
auggaaaaug ggguaucca 19

<210> 1008
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1008
uuuccaugac augauuauu 19

<210> 1009
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1009
aauaaucaug ucauggaaa 19

<210> 1010
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1010
caugauuauu acacauugc 19

<210> 1011
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1011
gcaaugugua auaaucaug 19

<210> 1012
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1012
cacauugcau gccuguauc 19

<210> 1013
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1013
gauacaggca ugcaaugug 19

<210> 1014
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1014
ccuguaucaa aacaucuca 19

<210> 1015
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1015
ugagauguuu ugauacagg 19

<210> 1016
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1016

caucucacgu accucauaa 19

<210> 1017
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1017
uuaugaggua cgugagaug 19

<210> 1018
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1018
ccucauaaac auauacacc 19

<210> 1019
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1019
gguguauaug uuuaugagg 19

<210> 1020
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1020
auacaccuau guacccaca 19

<210> 1021
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1021
uguggguaca uagguguau 19

<210> 1022
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1022
guacccacaa aaauuuuuu 19

<210> 1023
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1023
aaaaaauuuu ugugggguac 19

<210> 1024
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1024
uaaaaaaagg aaauuugag 19

<210> 1025
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1025
cucaaauuuc cuuuuuuua 19

<210> 1026
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1026
aauuugaguu uaaauagaa 19

<210> 1027

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1027
uucuauuuaa acucaaauu 19

<210> 1028
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1028
auagaaacau gauaaaugc 19

<210> 1029
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1029
gcauuuauca uguuucuau 19

<210> 1030
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente

<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1030
gauaaaugca agaaagaaa 19

<210> 1031
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1031
uuucuuucuu gcauuuauc 19

<210> 1032
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1032
gaaagaaaac auuuugauu 19

<210> 1033
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1033
aaucaaaaug uuuucuuuc 19

<210> 1034
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1034
acucauuguc acucugaug 19

<210> 1035
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1035
caucagagug acaaugagu 19

<210> 1036
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1036
cucugauguu caugugaac 19

<210> 1037
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1037
guucacauga acaucagag 19

<210> 1038
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1038
caugugaacu gguugcuuc 19

<210> 1039
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1039
gaagcaacca guucacaug 19

<210> 1040
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1040

guugcuucgg gcucuuuga 19

<210> 1041
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1041
ucaaagagcc cgaagcaac 19

<210> 1042
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1042
ucuuugaucu gucaccuau 19

<210> 1043
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1043
auaggugaca gaucaaaga 19

<210> 1044
<211> 19
<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1044
caccuaugga aucugagug 19

<210> 1045
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1045
cacucagauu ccauaggug 19

<210> 1046
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1046
aaucugagug guuuuauuu 19

<210> 1047
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1047
aaauaaaacc acucagauu 19

<210> 1048
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1048
uuuuuuagau uucucaguc 19

<210> 1049
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1049
gacugagaaa ucuaaaaaa 19

<210> 1050
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1050
cucaguccca aagaucuaa 19

<210> 1051

<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1051
uuagaucuuu gggacugag 19

<210> 1052
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1052
gaucuaagau aaauaaaca 19

<210> 1053
<211> 19
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de la secuencia artificial:
Oligonucleótido sintético"

<400> 1053
uguuuauuua ucuuagauc 19

REIVINDICACIONES

1. Un ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de LECT2, donde dicho ARNbc comprende una hebra sentido con una longitud de 15-30 pares de bases y una hebra antisentido con una longitud de 15-30 pares de bases y la hebra antisentido es complementaria respecto a al menos 15 nucleótidos contiguos de la SEQ ID NO: 1.

2. Un ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de LECT2, donde dicho ARNbc comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, comprendiendo la hebra antisentido una región de complementariedad respecto a un transcrito de ARN de LECT2, donde la hebra antisentido comprende al menos 15 nucleótidos contiguos que no difieren en más de 3 nucleótidos de las secuencias antisentido enumeradas en cualquiera de las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10.

3. El ARNbc de la reivindicación 1 o 2, donde dicho ARNbc comprende al menos un nucleótido modificado.

4. Un ARNi bicatenario (ARNbc) que comprende una hebra sentido complementaria respecto a una hebra antisentido, donde dicha hebra antisentido comprende una región de complementariedad respecto a un transcrito de ARN de LECT2, que comprende SEQ ID NO:1 o una secuencia de nucleótidos que tiene una sustitución de A a G en la posición de nucleótido 373 de SEQ ID NO: 1 donde cada hebra tiene de aproximadamente

14 a aproximadamente 30 nucleótidos, donde dicho ARNbc se representa mediante la fórmula (III):

sentido: 5' n_p -N_a -(X X X)$_i$-N_b -Y Y Y -N_b -(Z Z Z)$_j$ -N_a - n_q 3'

antisentido: 3' n_p'-N_a'-(X'X'X')$_k$-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-(Z'Z'Z')$_l$-N_a'- n_q' 5'

(III)

donde:

i, j, k, y l son cada uno independientemente 0 o 1;

p, p', q y q' son cada uno independientemente 0-6;

cada N_a y N_a' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-25 nucleótidos, los cuales están modificados o no modificados, o combinaciones de estos, comprendiendo cada secuencia al menos dos nucleótidos modificados de forma diferente;

cada N_b y N_b' representa independientemente una secuencia oligonucleotídica que comprende 0-10 nucleótidos, los cuales están modificados o no modificados, o combinaciones de estos;

cada n_p, n_p', n_q y n_q' representa independientemente un nucleótido protuberante;

XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' y Z'Z'Z' representan cada uno independientemente un motivo de tres modificaciones idénticas en tres nucleótidos consecutivos;

las modificaciones en N_b difieren de la modificación en Y y las modificaciones en N_b' difieren de la modificación en Y'.

5. El ARNbc de la reivindicación 4, donde i es 1; j es 1; o tanto i como j son 1.

6. El ARNbc de la reivindicación 4, donde k es 1; l es 1; o tanto k como l son 1.

7. El ARNbc de la reivindicación 4, donde XXX es complementario respecto a X'X'X', YYY es complementario respecto a Y'Y'Y' y ZZZ es complementario respecto a Z'Z'Z'.

8. El ARNbc de la reivindicación 4, donde el motivo Y'Y'Y' se encuentra en las posiciones 11, 12 y 13 de la hebra antisentido del extremo 5'.

9. El ARNbc de la reivindicación 8, donde Y' es 2'-O-metilo.

10. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la región dúplex tiene una longitud de 15-30 pares de nucleótidos.

11. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la región dúplex tiene una longitud de 17-23 pares de nucleótidos.

12. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la región dúplex tiene una longitud de 19-21 pares de nucleótidos.

13. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la región dúplex tiene una longitud de 21-23 pares de nucleótidos.

14. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la región de complementariedad tiene al menos 17 nucleótidos de longitud.

15. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la región de complementariedad tiene 19 nucleótidos de longitud.

16. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la región de complementariedad está entre 19 y 21 nucleótidos de longitud.

17. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde al menos una hebra comprende una protuberancia 3’ de al menos 1 nucleótido.

18. El ARNbc de la reivindicación 10, donde al menos una hebra comprende una protuberancia 3’ de al menos 2 nucleótidos.

19. El ARNbc de la reivindicación 3 o 4, donde al menos uno de dichos nucleótidos modificados se escoge del grupo que consiste en: un nucleótido modificado con 2'-O-metilo, un nucleótido que comprende un grupo 5'-fosforotioato, y un nucleótido terminal enlazado a un derivado colesterílico o un grupo de bisdecilamida de ácido dodecanoico.

20. El ARNbc de la reivindicación 3 o 4, donde al menos uno de dichos nucleótidos modificados se escoge del grupo que consiste en: un nucleótido modificado con 2'-desoxi-2'-fluoro, un nucleótido modificado con 2'-desoxi, un ácido nucleico bloqueado (LNA), un nucleótido acíclico, un nucleótido abásico, un nucleótido modificado con 2’-amino, un nucleótido modificado con 2’-alquilo, un nucleótido morfolínico, un fosforamidato, y un nucleótido que comprende una base no natural.

21. El ARNbc de la reivindicación 3 o 4, donde las modificaciones de los nucleótidos se seleccionan a partir del grupo constituido por ácido nucleico bloqueado (LNA), un nucleótido acíclico, ácido nucleico de hexitol o hexosa (HNA), ácido nucleico de ciclohexeno (CeNA), 2’-metoxietilo, 2’-O-alquilo, 2’-O-alilo, 2’-C-alilo, 2’-fluoro, 2’-O-metilo, 2’-desoxi, 2’-hidroxilo y combinaciones de estas.

22. El ARNbc de la reivindicación 3 o 4, donde las modificaciones de los nucleótidos son 2’-O-metilo, 2’-fluoro o ambas.

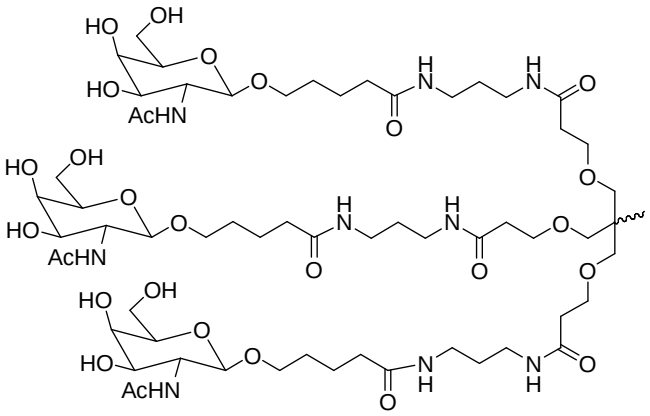
23. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la hebra sentido está conjugada a al menos un ligando.

24. El ARNbc de la reivindicación 23, donde el ligando está unido al extremo 3’ de la hebra sentido.

25. El ARNbc de la reivindicación 23, donde el ligando comprende un carbohidrato.

26. El ARNbc de la reivindicación 23, donde el ligando es un ligando de GalNAc.

27. El ARNbc de la reivindicación 23, donde el ligando es

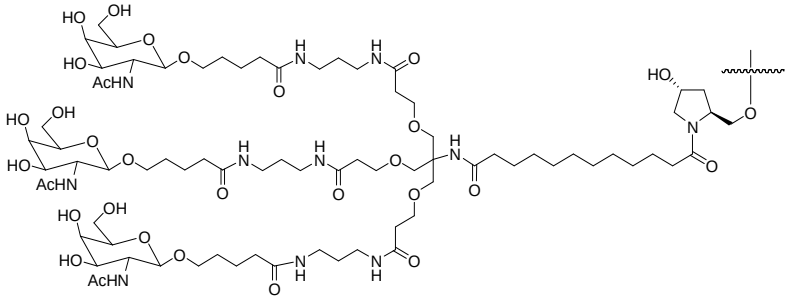


.

28. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones 23 a 27, donde el ligando está unido vía un conector.

29. El ARNbc de la reivindicación 28, donde el conector es un conector ramificado bivalente o trivalente.

30. El ARNbc de la reivindicación 28, donde el ligando y el conector son como se muestran en la Fórmula XXIV:



31. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones 23 a 30, donde el ligando dirige el ARNbc a los hepatocitos.

32. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la región de complementariedad consiste en una secuencia antisentido seleccionada de las secuencias antisentido descritas en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10.

33. El ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el ARNbc comprende una hebra sentido que consiste en una secuencia sentido seleccionada de las secuencias sentido descritas en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10, y una hebra antisentido que consiste en una secuencia antisentido seleccionada de las secuencias antisentido descritas en las Tablas 2-3, 5-6 y 9-10.

34. Una célula que contiene el ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

35. Una composición farmacéutica para inhibir la expresión de un gen LECT2, comprendiendo la composición el ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33.

36. La composición farmacéutica de la reivindicación 35, donde el ARNbc se administra en una solución no tamponada.

37. La composición farmacéutica de la reivindicación 36, donde dicha solución no tamponada es solución salina o agua.

38. La composición farmacéutica de la reivindicación 35, donde dicho ARNbc se administra con una solución tampón.

39. La composición farmacéutica de la reivindicación 38, donde dicha solución tapón comprende acetato, citrato, prolamina, carbonato, fosfato o cualquier combinación de estos.

40. La composición farmacéutica de la reivindicación 38, donde dicha solución tampón es solución salina tamponada con fosfato (PBS).

41. La composición farmacéutica de la reivindicación 35, donde dicha composición comprende una formulación lipídica.

42. La composición farmacéutica de la reivindicación 41, donde la formulación lipídica es una formulación LNP.

43. La composición farmacéutica de la reivindicación 42, donde la formulación lipídica es una formulación LNP11.

44. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 35-43, donde el ARNbc se dirige hacia una célula hepáticca o un hepatocito.

45. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 35-44, donde dicha composición se administra por vía intravenosa.

46. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 35-44, donde dicha composición se administra por vía subcutánea.

47. La composición farmacéutica de la reivindicación 45, donde dicha composición comprende una formulación de lípido y se administra de forma intravenosa.

48. La composición farmacéutica de la reivindicación 46, donde dicha composición comprende un ARNbc que se conjuga a un ligando escogido de un ligando de carbohidrato o un ligando de GalNAc.

49. Un método para inhibir la expresión de LECT2 en una célula, comprendiendo el método:

(a) introducir en la célula el ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones 1-33, y

(b) mantener la célula de la etapa (a) durante un tiempo suficiente para obtener la degradación del transcrito de ARNm de un gen LECT2, inhibiendo de ese modo la expresión del gen LECT2 en la célula.

50. El método de la reivindicación 49, donde la célula es tratada *ex vivo*, *in vitro*, o *in vivo*.

51. El método de la reivindicación 49, donde la célula está presente en un sujeto que necesita tratamiento, prevención y/o manejo de un trastorno relacionado con la expresión de LECT2.

52. El método de la reivindicación 51, donde dicho trastorno es amiloidosis.

53. El método de la reivindicación 52, donde la amiloidosis es una amiloidosis de LECT2.

54. El método de cualquiera de las reivindicaciones 49-53, donde la célula es una célula hepática o un hepatocito.

55. El método de cualquiera de las reivindicaciones 49-54, donde la expresión de LECT2 es inhibida en al menos 20%.

56. El método de cualquiera de las reivindicaciones 49-54, donde la expresión de LECT2 es inhibida en al menos 30%.

57. Un método para tratar un trastorno relacionado con la expresión de LECT2, que comprende administrar a un sujeto que necesita de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de

(i) el ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones 1-33 o

(ii) la composición de cualquiera de las reivindicaciones 35-48.

58. Un método para tratar una amiloidosis de LECT2, que comprende administrar a un sujeto que necesita de tal tratamiento un ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc), donde dicho ARNbc comprende una hebra sentido que tiene una longitud de 15-30 pares de bases, y una hebra antisentido que tiene una longitud de 15-30 pares de bases, y la hebra

antisentido es complementaria a al menos 15 nucleótidos contiguos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de nucleótidos que tiene una sustitución de A a G en la posición de nucleótido 373 de SEQ ID NO: 1.

59. El método de la reivindicación 57 o 58, donde el sujeto tiene amiloidosis o está en riesgo de desarrollar amiloidosis.

60. El método de la reivindicación 57 o 58, donde la amiloidosis es una amiloidosis de LECT2.

61. El método de cualquiera de las reivindicaciones 49-60, donde el ARNbc o composición que comprende el ARNbc se administra según un régimen de dosificación.

62. El método de la reivindicación 61, donde el régimen de dosificación es semanal, bisemanal, o mensual.

63. El método de cualquiera de las reivindicaciones 49-62, donde el método reduce la deposición de amiloide de LECT2.

64. Un método para reducir la deposición de amiloide de LECT2 en un sujeto que tiene una amiloidosis de LECT2, comprendiendo el método administrar al sujeto

(i) el ARNbc de cualquiera de las reivindicaciones 1-33 o

(ii) la composición de cualquiera de las reivindicaciones 35-48.

65. El método de cualquiera de las reivindicaciones 57-64, donde el ARNbc se administra a una dosis de 0.05-50 mg/kg.

66. El método de cualquiera de las reivindicaciones 57-64, donde el ARNbc se administra a una concentración de 0.01 mg/kg a 5 mg/kg de peso corporal del sujeto.

67. El método de la reivindicación 65, donde el ARNbc se formula como una formulación LNP y se administra a una dosis de 0.1 mg/kg a 0.5 mg/kg.

68. El método de la reivindicación 65, donde el ARNbc se conjuga a un ligando de GalNAc.

69. El método de la reivindicación 65, donde el ARNbc se conjuga a un ligando de GalNAc y se administra a una dosis de 1 mg/kg a 10 mg/kg.

70. Un vector que codifica al menos una hebra de un ARNbc, donde dicho ARNbc comprende una región de complementariedad a al menos una parte de un ARNm que codifica LECT2, donde dicho ARNbc tiene una longitud de 30 pares de bases o menos, y donde dicho ARNbc selecciona como diana a dicho ARNm para la escisión.

71. El vector de la reivindicación 70, donde la región de complementariedad tiene una longitud de al menos 15 nucleótidos.

72. El vector de la reivindicación 70, donde dicho ARNbc comprende una secuencia antisentido y/o una secuencia sentido seleccionada de una secuencia descrita en la Tabla 2, 3, 5, 6, 9 o 10.

73. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 70 a 72, donde la región de complementariedad tiene una longitud de 19 a 21 nucleótidos.

74. Una célula que comprende el vector de cualquiera de las reivindicaciones 70-73.

RESUMEN

La invención se refiere a composiciones de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) que tienen como diana el gen LECT2 y a métodos para utilizar tales composiciones de ARNbc con el fin de alterar (p. ej., inhibir) la expresión de LECT2.