

OLIGONUCLEÓTIDOS PARA MODULAR LA EXPRESIÓN DE TAU

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a oligonucleótidos (oligómeros) que son complementarios del transcritto de la proteína Tau asociada a los microtúbulos (*MAPT*), lo que lleva a la reducción de la expresión de Tau. La reducción de los transcritos de *MAPT* y/o de la expresión de proteína Tau es beneficiosa para un espectro de trastornos médicos, tales como taupatías, enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (FTD), FTDP-17, parálisis supranuclear progresiva (PSP), encefalopatía traumática crónica (CTE), degeneración ganglionar corticobasal (CBD), epilepsia, síndrome de Dravet, depresión, trastornos convulsivos y trastornos motores.

ANTECEDENTES

Tau es una proteína asociada a los microtúbulos (MAP) que interactúa con la tubulina y está involucrada en el ensamblaje y la estabilización de los microtúbulos. Los microtúbulos son componentes estructurales críticos del citoesqueleto celular y están involucrados en diversos procesos celulares que incluyen mitosis, citocinesis y transporte vesicular. La proteína Tau está presente en múltiples tipos de células y tejidos, pero es particularmente abundante en las neuronas, donde cumple una función crucial en la regulación del transporte y funcionamiento axónicos.

La alteración de los niveles de expresión y/o el funcionamiento de Tau contribuye a la fisiopatología de diversos trastornos neurodegenerativos. Por ejemplo, los agregados de Tau incorrectamente plegada e hiperfosforilada se encuentran en las inclusiones neurofibrilares asociadas a la enfermedad de Alzheimer (AD) y taupatías relacionadas, tales como la parálisis supranuclear progresiva (PSP), degeneración ganglionar corticobasal (CBD), encefalopatía traumática crónica (CTE), demencia frontotemporal (FTD) y FTD con parkinsonismo vinculado con el cromosoma 17 (FTDP-17), enfermedad de Pick (PiD), enfermedad argirofílica granulosa (AGD), demencia senil con ovillos (TPSD), taupatía primaria de la edad (PART), síndrome de Down y enfermedad Lytico-Bodig. La regulación ascendente de Tau patológica se asocia con taupatías infantiles, inclusive hemimegalencefalía (HME), complejo de esclerosis tuberosa; displasia cortical focal tipo 2b; y ganglioglioma. Además, la expresión y/o el funcionamiento anormal de Tau también pueden estar asociados con otras enfermedades, tales como el síndrome de Hallervorden-Spatz, también conocido como neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro tipo 1 (NBIA1), gangliocitomas y panencefalitis esclerosante subaguda. Tau además puede tener una función en los trastornos convulsivos (por ejemplo, epilepsia), disfunción de red (por ejemplo, depresión) y trastornos motores (por ejemplo, enfermedad de Parkinson).

Se han descrito tanto las moléculas antisentido como las moléculas de siARN que pueden reducir los niveles de proteína Tau al actuar sobre transcritos de pre-ARNm de *MAPT* o ARNm. Ver, por ejemplo, De Vos *et al* 2013 *Journal of Neuroscience* Vol 33. pp 12887, WO2013/148260,

WO2014/153236, WO2015/010135, WO2016/126995, WO2016/151523, WO2017/09679 y WO2018/064593. Los oligonucleótidos antisentido que pueden inducir la modulación de empalme del transcripto de *MAPT* también se han descrito en Sud *et al* 2014 Mol Ther Nucl Acid 3 e180 y WO2016/019063.

Los trastornos asociados a Tau, tales como la AD, son la causa más común de demencia en ancianos, y existe una gran necesidad de agentes potentes y eficaces para el tratamiento de la AD y enfermedades neurodegenerativas relacionadas, inclusive taupatías, trastornos convulsivos y trastornos motores.

OBJETO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona oligonucleótidos antisentido que reducen Tau tanto *in vivo* como *in vitro*. La invención identificó tres regiones diana específicas en el pre-ARNm de *MAPT* ubicadas en el intrón 1 o 2 del pre-ARNm de *MAPT* humana, y los oligonucleótidos antisentido pueden actuar sobre este para lograr una inhibición eficaz de Tau. En particular, actuar sobre la posición 12051 a 12111, 39562 a 39593 y o 72837 a 72940 de SEQ ID NO: 1 es ventajoso en términos de reducción de Tau. La invención también proporciona secuencias de oligonucleótidos antisentido y compuestos eficaces que tienen la capacidad de reducir Tau, y su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos, tales como enfermedades neurodegenerativas que incluyen taupatías, enfermedad de Alzheimer, FTDP-17, trastornos convulsivos y trastornos motores.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a oligonucleótidos que actúan sobre ácido nucleico que codifica Tau, que es capaz de modular la expresión de Tau, y al uso del oligonucleótido para tratar o prevenir enfermedades relacionadas con el funcionamiento de Tau.

Por lo tanto, en un primer aspecto, la invención proporciona oligonucleótidos de 10 a 30 nucleótidos de longitud que comprenden una secuencia de nucleótidos contiguos de al menos 10 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de complementariedad con regiones específicas de *MAPT* representadas por SEQ ID NO: 3, 4 y 5.

El oligonucleótido puede ser un oligonucleótido antisentido, preferentemente con un diseño de *gapmer*. Preferentemente, el oligonucleótido es capaz de inhibir la expresión de Tau mediante escisión de un ácido nucleico diana. La escisión se logra, preferentemente, mediante reclutamiento de nucleasa.

En otro aspecto, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los oligonucleótidos de la invención y diluyentes, portadores, sales y/o adyuvantes aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

En otro aspecto, la invención proporciona métodos para un método *in vivo* o *in vitro* para modular la expresión de Tau en una célula diana que expresa Tau, mediante administración a dicha célula de un oligonucleótido o una composición de la invención en una cantidad eficaz.

En otro aspecto, la invención proporciona métodos para tratar o prevenir una enfermedad, un trastorno o una disfunción asociados a la actividad *in vivo* de Tau que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz del oligonucleótido de la invención a un sujeto que tiene o es sensible a la enfermedad, el trastorno o la disfunción.

En otro aspecto, el oligonucleótido o la composición de la invención se usa para el tratamiento o la prevención de la enfermedad de Alzheimer (AD), parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia frontotemporal (FTD) o FTDP-17.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Los resultados del cribado de genoteca de oligonucleótidos (ver Ejemplo 1) que abarca todas las regiones de intrón en MAPT. Cada punto representa un compuesto de oligonucleótido, el eje x ilustra su posición en el transcrito de MAPT, y el eje y muestra la cantidad de ARNm de MAPT restante en comparación con el control (un número bajo corresponde a una gran reducción de MAPT). A, B y C indican tres regiones del transcrito de MAPT seleccionadas como regiones diana para otros compuestos de oligonucleótido.

Figura 2: Compuesto 9_103 (la secuencia de nucleobases se muestra en SEQ ID NO 9)

Figura 3: Compuesto 9_104 (la secuencia de nucleobases se muestra en SEQ ID NO 9)

Figura 4: Compuesto 11_1 (la secuencia de nucleobases se muestra en SEQ ID NO 11)

Figura 5: Compuesto 49_38 (la secuencia de nucleobases se muestra en SEQ ID NO 49)

Figura 6: Compuesto 49_189 (la secuencia de nucleobases se muestra en SEQ ID NO 49)

Los compuestos ilustrados en las Figuras 2, 3, 4, 5 y 6 se muestran en forma protonada (el átomo de S en el enlace fosforotioato está protonado); se entiende que la presencia del protón dependerá de la acidez del entorno de la molécula, y la presencia de un catión alternativo (por ejemplo, cuando el oligonucleótido está en forma de sal). Los fosforotioatos protonados existen en formas tautoméricas.

DEFINICIONES

Oligonucleótido

Como se usa en la presente, el término “oligonucleótido” se define, como lo entiende habitualmente la persona del oficio de nivel medio, como una molécula que comprende dos o más nucleósidos ligados de manera covalente. Tales nucleósidos unidos de manera covalente también se pueden denominar moléculas u oligómeros de ácido nucleico. Los oligonucleótidos se elaboran habitualmente en el laboratorio mediante síntesis química en fase sólida y posterior purificación y aislamiento. Cuando se hace referencia a una secuencia del oligonucleótido, se hace referencia a la secuencia o el orden de porciones nucleobase, modificaciones de estos, de los nucleótidos o nucleósidos ligados de manera covalente. El oligonucleótido de la invención es artificial y sintetizado químicamente, y en general se purifica o se aísla. El oligonucleótido de la invención puede comprender uno o más nucleósidos o nucleótidos modificados, tales como nucleósidos modificados

en azúcar 2'.

Oligonucleótidos antisentido

Como se usa en la presente, la expresión “oligonucleótido antisentido” se define como oligonucleótidos capaces de modular la expresión de un gen diana mediante hibridación con un ácido nucleico diana, en particular, con una secuencia contigua en un ácido nucleico diana. Los oligonucleótidos antisentido no son esencialmente bicatenarios y, por lo tanto, no son siARN ni shARN. Preferentemente, los oligonucleótidos antisentido de la presente invención son monocatenarios. Cabe destacar que los oligonucleótidos monocatenarios de la presente invención pueden formar horquillas o estructuras en dúplex intermoleculares (dúplex entre dos moléculas del mismo oligonucleótido), siempre que el grado de intra- o interautocomplementariedad sea menor de 50 % a lo largo de todo el oligonucleótido.

De manera ventajosa, el oligonucleótido antisentido monocatenario de la invención no contiene nucleósidos de ARN, ya que esto disminuye la resistencia a la nucleasa.

De manera ventajosa, el oligonucleótido antisentido de la invención comprende uno o más nucleósidos o nucleótidos modificados, tales como nucleósidos modificados en azúcar 2'. Además, resulta ventajoso que los nucleósidos que no están modificados sean nucleósidos de ADN.

Secuencia de nucleótidos contiguos

La expresión “secuencia de nucleótidos contiguos” se refiere a la región del oligonucleótido que es complementaria del ácido nucleico diana o la secuencia diana. La expresión se usa de manera indistinta en la presente con la expresión “secuencia de nucleobases contiguas” y la expresión “secuencia de motivo de oligonucleótido”. En algunas formas de realización, todos los nucleótidos del oligonucleótido constituyen la secuencia de nucleótidos contiguos. En algunas formas de realización, el oligonucleótido comprende la secuencia de nucleótidos contiguos, tal como una región de *gapmer* F-G-F', y puede comprender opcionalmente otros nucleótidos, por ejemplo, una región ligadora de nucleótidos que se puede usar para unir un grupo funcional con la secuencia de nucleótidos contiguos. La región ligadora de nucleótidos puede ser complementaria o no del ácido nucleico diana. Se entiende que la secuencia de nucleótidos contiguos del oligonucleótido no puede ser más larga que el oligonucleótido como tal, y que el oligonucleótido no puede ser más corto que la secuencia de nucleótidos contiguos.

Nucleótidos

Los nucleótidos son los cimientos de los oligonucleótidos y polinucleótidos, y a los fines de la presente invención, incluyen nucleótidos naturales y no naturales. En la naturaleza, los nucleótidos, tales como nucleótidos de ADN y ARN, comprenden una porción azúcar de ribosa, una porción nucleobase y uno o más grupos fosfato (que está ausente en los nucleósidos). Los nucleósidos y nucleótidos también se pueden denominar, de manera indistinta “unidades” o “monómeros”.

Nucleósido modificado

Las expresiones “nucleósido modificado” o “modificación de nucleósido”, como se usan en la presente, se refieren a nucleósidos modificados en comparación con el nucleósido de ADN o ARN equivalente mediante la introducción de una o más modificaciones de la porción azúcar o la porción (nucleo)base. En una forma de realización preferida, el nucleósido modificado comprende una porción azúcar modificada. La expresión “nucleósido modificado” también se puede usar en la presente de manera indistinta con las expresiones “análogo de nucleósido” o “unidades” modificadas o “monómeros” modificados. Los nucleósidos con una porción azúcar de ADN o ARN no modificada se denominan nucleósidos de ADN o ARN en la presente. Los nucleósidos con modificaciones en la región base del nucleósido de ADN o ARN todavía se denominan, en general ADN o ARN si permiten el emparejamiento de bases Watson-Crick.

Enlace internucleósido modificado

La expresión “enlace internucleósido modificado” se define, como lo entiende en general la persona del oficio de nivel medio, como enlaces diferentes de enlaces fosfodiéster (PO), que acoplan dos nucleósidos de manera covalente. Por lo tanto, los oligonucleótidos de la invención pueden comprender enlaces internucleósido modificados. En algunas formas de realización, el enlace internucleósido modificado aumenta la resistencia a nucleasa del oligonucleótido en comparación con un enlace fosfodiéster. Para oligonucleótidos naturales, el enlace internucleósido incluye grupos fosfato que crean un enlace fosfodiéster entre nucleósidos adyacentes. Los enlaces internucleósido modificados son particularmente útiles para estabilizar oligonucleótidos para el uso *in vivo*, y pueden servir para proteger contra la escisión de nucleasa en regiones de nucleósidos de ADN o ARN en el oligonucleótido de la invención, por ejemplo, dentro de la región de separación G de un oligonucleótido *gapmer*, así como en regiones de nucleósidos modificados, tales como regiones F y F’.

En una forma de realización, el oligonucleótido comprende uno o más enlaces internucleósido modificados a partir del fosfodiéster natural, tal como uno o más enlaces internucleósido modificados que son, por ejemplo, más resistentes al ataque de la nucleasa. La resistencia a la nucleasa se puede determinar mediante la incubación del oligonucleótido en suero sanguíneo o usando un ensayo de resistencia a la nucleasa (por ejemplo, fosfodiesterasa de veneno de serpiente (SVPD)). Ambos métodos son conocidos en el estado de la técnica. Los enlaces internucleósido que son capaces de mejorar la resistencia a la nucleasa de un oligonucleótido se denominan enlaces internucleósido resistentes a la nucleasa. En algunas formas de realización, al menos 50 % de los enlaces internucleósido en el oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este, se modifican, tal como al menos 60 %, tal como al menos 70 %, tal como al menos 75 %, tal como al menos 80 % o tal como al menos 90 % de los enlaces internucleósido en el oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este, se modifican. En algunas formas de realización, se modifican todos los enlaces internucleósido del oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este.

Cabe destacar que, en algunas formas de realización, los nucleósidos que unen el oligonucleótido de la invención con un grupo funcional no nucleótido, tal como un conjugado, pueden ser fosfodiéster. En algunas formas de realización, todos los enlaces internucleósido del oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este, son enlaces internucleósido resistentes a nucleasa.

Los enlaces internucleósido modificados se pueden seleccionar del grupo que comprende fosforotioato, difosforotioato y boranofosfato. En algunas formas de realización, los enlaces internucleósido modificados son compatibles con el reclutamiento de RNasa H del oligonucleótido de la invención, por ejemplo, fosforotioato, difosforotioato y boranofosfato.

En algunas formas de realización, el enlace internucleósido comprende azufre (S), tal como un enlace internucleósido de fosforotioato.

Con los oligonucleótidos de la invención, es ventajoso usar enlaces internucleósido de fosforotioato.

Los enlaces internucleósido de fosforotioato son particularmente útiles debido a su resistencia a nucleasa, farmacocinética beneficiosa y facilidad de preparación. En algunas formas de realización, al menos 50 % de los enlaces internucleósido en el oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este, son fosforotioato, tal como al menos 60 %, tal como al menos 70 %, tal como al menos 75 %, tal como al menos 80 % o tal como al menos 90 % de los enlaces internucleósido en el oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este, son fosforotioato. En algunas formas de realización, todos los enlaces internucleósido del oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este, son fosforotioato.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido de la invención comprende enlaces internucleósido fosforotioato y al menos un enlace fosfodiéster, tal como 2, 3 o 4 enlaces fosfodiéster, además de el o los enlaces fosforotioato. En un oligonucleótido *gapmer*, los enlaces fosfodiéster, cuando están presentes, adecuadamente no están ubicados entre nucleósidos de ADN contiguos en la región de separación G.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido comprende uno o más enlaces internucleósido neutrales, en particular, un enlace internucleósido seleccionado de fosfotriéster, metilfosfonato, MMI, amida-3, formacetal o tioformacetal.

Otros enlaces internucleósido se divulgan en WO2009/124238 (que se incorpora en la presente por referencia). En una forma de realización, el enlace internucleósido se selecciona de ligadores divulgados en WO2007/031091 (que se incorpora en la presente por referencia). En particular, el enlace internucleósido se puede seleccionar de -O-P(O)₂-O-, -O-P(O,S)-O-, -O-P(S)₂-O-, -S-P(O)₂-O-, -S-P(O,S)-O-, -S-P(S)₂-O-, -O-P(O)₂-S-, -O-P(O,S)-S-, -S-P(O)₂-S-, -O-PO(R^H)-O-, -O-PO(OCH₃)-O-, -O-PO(NR^H)-O-, -O-PO(OCH₂CH₂S-R)-O-, -O-PO(BH₃)-O-, -O-PO(NHR^H)-O-, -O-P(O)₂-NR^H-, -NR^H-P(O)₂-O-, -NR^H-CO-O-, -NR^H-CO-NR^H-, y/o el ligador internucleósido se puede seleccionar del grupo que consiste en: -O-CO-O-, -O-CO-NR^H-, -NR^H-CO-CH₂-, -O-CH₂-CO-NR^H-, -

O-CH₂-CH₂-NR^H-, -CO-NR^H-CH₂-, -CH₂-NR^HCO-, -O-CH₂-CH₂-S-, -S-CH₂-CH₂-O-, -S-CH₂-CH₂-S-, -CH₂-SO₂-CH₂-, -CH₂-CO-NR^H-, -O-CH₂-CH₂-NR^H-CO -, -CH₂-NCH₃-O-CH₂-, en donde R^H se selecciona de hidrógeno y C1 -4-alquilo.

Los enlaces resistentes a nucleasa, tales como los enlaces fosforotioato, son de particular utilidad en regiones de oligonucleótidos capaces de reclutar nucleasa al formar un dúplex con el ácido nucleico diana, tales como la región G de los *gapmer*. No obstante, los enlaces fosforotioato pueden también ser útiles en regiones que no son de reclutamiento de nucleasa y/o regiones de mejora de afinidad, tales como las regiones F y F' de los *gapmer*. En algunas formas de realización, los oligonucleótidos *gapmer* pueden comprender uno o más enlaces fosfodiéster en la región F o F', o en ambas regiones F y F', en donde todos los enlaces internucleósido de la región G pueden ser fosforotioato.

De manera ventajosa, todos los enlaces internucleósido de la secuencia de nucleótidos contiguos del oligonucleótido son fosforotioato, o todos los enlaces internucleósido del oligonucleótido son enlaces fosforotioato.

Nucleobase

El término nucleobase incluye la porción purina (por ejemplo, adenina y guanina) y pirimidina (por ejemplo, uracilo, timina y citosina) presente en nucleósidos y nucleótidos que forman enlaces hidrógeno en la hibridación de ácidos nucleicos. En el contexto de la presente invención, el término nucleobase también abarca nucleobases modificadas que pueden diferir de las nucleobases naturales, pero son funcionales durante la hibridación de ácidos nucleicos. En este contexto, "nucleobase" se refiere a nucleobases naturales, tales como adenina, guanina, citosina, timidina, uracilo, xantina e hipoxantina, así como variantes no naturales. Tales variantes se describen, por ejemplo, en Hirao *et al* (2012) *Accounts of Chemical Research*, vol 45, página 2055 y Bergstrom (2009) *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry Suppl.* 37 1.4.1.

En algunas formas de realización, la porción nucleobase se modifica cambiando la purina o pirimidina por una purina o pirimidina modificada, tal como purina sustituida o pirimidina sustituida, tal como una nucleobase seleccionada de isocitosina, pseudoisocitosina, 5-metil citosina, 5-tiozolo-citosina, 5-propinil-citosina, 5-propinil-uracilo, 5-bromouracil 5-tiazolo-uracilo, 2-tio-uracilo, 2'tio-timina, inosina, diaminopurina, 6-aminopurina, 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina y 2-cloro-6-aminopurina.

Las porciones nucleobase se pueden indicar mediante el código de letras para cada nucleobase correspondiente, por ejemplo A, T, G, C o U, en donde cada letra puede incluir opcionalmente nucleobases modificadas de función equivalente. Por ejemplo, en los oligonucleótidos especificados, las porciones nucleobase se seleccionan de A, T, G, C y 5-metil citosina. Opcionalmente, para *gapmer* de LNA, se pueden usar nucleósidos de LNA 5-metil citosina.

Oligonucleótido modificado

La expresión “oligonucleótido modificado” describe un oligonucleótido que comprende uno o más nucleósidos modificados en azúcar y/o enlaces internucleósido modificados. La expresión “oligonucleótido quimérico” se ha utilizado en la literatura para describir oligonucleótidos con nucleósidos modificados.

Complementariedad

El término “complementariedad” describe la capacidad para el emparejamiento de bases Watson-Crick de nucleósidos/nucleótidos. Los pares de bases Watson-Crick son guanina (G)-citosina (C) y adenina (A) - timina (T)/uracilo (U). Se entiende que los oligonucleótidos pueden comprender nucleósidos con nucleobases modificadas, por ejemplo, se suele usar 5-metil citosina en lugar de citosina, y como tal, el término “complementariedad” abarca el emparejamiento de bases Watson-Crick entre nucleobases no modificadas y modificadas (ver, por ejemplo, Hirao *et al* (2012) *Accounts of Chemical Research*, vol 45, página 2055 y Bergstrom (2009) *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry Suppl.* 37 1.4.1).

Como se usa en la presente, la expresión “% complementario” se refiere a la proporción de nucleótidos (en porcentaje) de una secuencia de nucleótidos contiguos en una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, oligonucleótido) que a lo largo de la secuencia de nucleótidos contiguos, son complementarios de una secuencia de referencia (por ejemplo, una secuencia diana o un motivo de secuencia). Por lo tanto, el porcentaje de complementariedad se calcula contando la cantidad de nucleobases alineadas que son complementarias (del par de bases Watson-Crick) entre las dos secuencias (cuando se alinean con la secuencia diana 5'-3' y la secuencia de oligonucleótido de 3'-5'), dividiendo dicha cantidad por la cantidad total de nucleótidos en el oligonucleótido y multiplicando por 100. En dicha comparación, una nucleobase/un nucleótido que no se alinea (no forma un par de bases) se denomina error de emparejamiento. Las inserciones y eliminaciones no se permiten en el cálculo de % de complementariedad de una secuencia de nucleótidos contiguos. Cabe destacar que, para determinar la complementariedad, las modificaciones químicas de las nucleobases se desestiman siempre que se retenga la capacidad funcional de la nucleobase para formar emparejamiento de bases Watson-Crick (por ejemplo, 5'-metil citosina se considera idéntica a una citosina a fin de calcular el % de identidad).

La expresión “totalmente complementario” se refiere a 100 % de complementariedad.

A continuación se muestra un ejemplo de un oligonucleótido que es totalmente complementario del ácido nucleico diana.

A continuación se muestra un ejemplo de un oligonucleótido (SEQ ID NO: 49) que es totalmente complementario del ácido nucleico diana (SEQ ID NO: 4).

```

5'  gaaggttgaaatgagaattgatttgagttaaa  3'  (SEQ ID NO: 4)
3'              actcttaactaaactcaatt  5'  (SEQ ID NO: 49)

```

Identidad

Como se usa en la presente, el término “identidad” se refiere a la proporción de nucleótidos (en porcentaje) de una secuencia de nucleótidos contiguos en una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, oligonucleótido) que a lo largo de la secuencia de nucleótidos contiguos, son idénticos a una secuencia de referencia (por ejemplo, un motivo de secuencia). El porcentaje de identidad se calcula, por lo tanto, contando la cantidad de nucleobases alineadas que son idénticas (una coincidencia) entre dos secuencias (en la secuencia de nucleótidos contiguos del compuesto de la invención y en la secuencia de referencia), dividiendo esa cantidad por la cantidad total de nucleótidos en el oligonucleótido y multiplicando por 100. Por lo tanto, el porcentaje de identidad = (coincidencias x 100)/longitud de región alineada (por ejemplo, la secuencia de nucleótidos contiguos). Las inserciones y eliminaciones no se permiten en el cálculo del porcentaje de identidad de una secuencia de nucleótidos contiguos. Cabe destacar que, para determinar la identidad, las modificaciones químicas de las nucleobases se desestiman siempre que se retenga la capacidad funcional de la nucleobase para formar emparejamiento de bases Watson-Crick (por ejemplo, 5-metil citosina se considera idéntica a una citosina a fin de calcular el % de identidad).

Hibridación

Como se usan en la presente, los términos “hibridar” o “hibrida” se refieren a dos cadenas de ácido nucleico (por ejemplo, un oligonucleótido y un ácido nucleico diana) que forman enlaces hidrógeno entre los pares de bases en cadenas opuestas, y así forman un dúplex. La afinidad de la fijación entre dos cadenas de ácido nucleico es la fuerza de la hibridación. Con frecuencia, se describe en términos de temperatura de fusión (T_m) que se define como la temperatura en que la mitad de los oligonucleótidos forman un dúplex con el ácido nucleico diana. En condiciones fisiológicas, T_m no es estrictamente proporcional a la afinidad (Mergny y Lacroix, 2003, *Oligonucleotides* 13:515–537). La energía libre de Gibbs de estado estándar ΔG° es una representación más precisa de la afinidad de fijación y se relaciona con la constante de disociación (K_d) de la reacción mediante $\Delta G^\circ = -RT \ln(K_d)$, en donde R es la constante de gas y T es la temperatura absoluta. Por lo tanto, una ΔG° muy baja de la reacción entre un oligonucleótido y el ácido nucleico diana refleja una hibridación fuerte entre el oligonucleótido y el ácido nucleico diana. ΔG° es la energía asociada a una reacción en donde las concentraciones acuosas son 1 M, el pH es 7, y la temperatura es 37°C. La hibridación de oligonucleótidos con un ácido nucleico diana es una reacción espontánea, y para reacciones espontáneas, ΔG° es menor de 0. ΔG° se puede medir de manera experimental, por ejemplo, usando el método de calorimetría de titulación isotérmica (ITC) como se describe en Hansen et al., 1965, *Chem. Comm.* 36–38 y Holdgate et al., 2005, *Drug Discov Today*. La persona del oficio de nivel medio sabrá que se puede adquirir equipamiento disponible en el comercio para mediciones de ΔG° . ΔG° también se puede estimar en forma numérica usando el modelo de vecinos más cercanos como describe SantaLucia, 1998, *Proc Natl Acad Sci USA*. 95: 1460–1465 usando los parámetros termodinámicos derivados de manera adecuada descritos por

Sugimoto *et al.*, 1995, *Biochemistry* 34:11211–11216 y McTigue *et al.*, 2004, *Biochemistry* 43:5388–5405. A fin de tener la posibilidad de modular su diana de ácido nucleico prevista mediante hibridación, los oligonucleótidos de la presente invención se hibridan con un ácido nucleico diana con valores de ΔG° estimados por debajo de -10 kcal para los oligonucleótidos que tienen 10-30 nucleótidos de longitud. En algunas formas de realización, el grado o la fuerza de hibridación se mide mediante la energía libre de Gibbs de estado estándar ΔG° . Los oligonucleótidos se pueden hibridar con un ácido nucleico diana con valores de ΔG° estimados debajo del rango de -10 kcal, tal como debajo de -15 kcal, tal como debajo de -20 kcal y tal como debajo de -25 kcal para oligonucleótidos que tienen 8-30 nucleótidos de longitud. En algunas formas de realización, los oligonucleótidos se hibridan con un ácido nucleico diana con un valor de ΔG° estimado de -10 a -60 kcal, tal como -12 a -40, tal como de -15 a -30 kcal o -16 a -27 kcal, tal como -18 a -25 kcal.

Ácido nucleico diana

De acuerdo con la presente invención, el ácido nucleico diana es un ácido nucleico que codifica Tau de mamífero y puede ser, por ejemplo, un gen, un ARN, un ARNm y pre-ARNm, un ARNm maduro o una secuencia de cADN. La diana puede, por lo tanto, denominarse ácido nucleico diana de Tau o ácido nucleico diana de MAPT. Estas expresiones se pueden usar de forma indistinta. El oligonucleótido de la invención puede actuar, por ejemplo, sobre regiones de exón de una MAPT de mamífero, o puede actuar, por ejemplo, sobre la región de intrón en el pre-ARNm de MAPT (ver la Tabla 1).

Tabla 1. Exones e intrones de MAPT humana

Regiones exónicas en pre-ARNm de Tau humana (SEQ ID NO 2)			Regiones intrónicas en pre-ARNm de Tau humana (SEQ ID NO 2)		
ID	inicio	Fin	ID	inicio	Fin
e1	1	303	i1	304	67979
e2	67980	68129	i2	68130	77517
e3	77518	77604	i3	77605	80043
e4	80044	80130	i4	80131	84033
e5	84034	84099	i5	84100	88837
e6	88838	89590	i6	89591	92699
e7	92700	92755	i7	92756	95537
e8	95538	95735	i8	95736	97119
e9	97120	97246	i8	97247	102058
e10	102059	102324	i9	102325	115969
e11	115970	116062	i10	116063	119902
e12	119903	119984	i11	119985	124287
e13	124288	124400	i12	124401	129623
e14	129624	134004			

De manera adecuada, el ácido nucleico diana codifica una proteína Tau, en particular, Tau

de mamífero, tal como Tau humana (ver, por ejemplo, Tablas 2 y 3) que proporciona las secuencias de pre-ARNm para Tau humana y de mono).

En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1 y 2 o variantes naturales de estas (por ejemplo, secuencias que codifican una proteína Tau de mamífero). Si se usa el oligonucleótido de la invención en investigación o diagnóstico, el ácido nucleico diana puede ser un cADN o un ácido nucleico sintético derivado de ADN o ARN.

Para aplicación *in vivo* o *in vitro*, el oligonucleótido de la invención es en general capaz de inhibir la expresión de la proteína Tau en una célula que expresa el ácido nucleico diana de MAPT. La secuencia contigua de nucleobases del oligonucleótido de la invención es, en general, complementaria del ácido nucleico diana de MAPT, según se midió a lo largo de todo el oligonucleótido, opcionalmente a excepción de uno o dos errores de emparejamiento, y opcionalmente excluyendo las regiones ligadoras a base de nucleótidos que pueden unir el oligonucleótido con un grupo funcional opcional, tal como un conjugado, u otros nucleótidos terminales no complementarios (por ejemplo, región D' o D''). En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana puede ser ARN o ADN, tal como un ARN mensajero, tal como un ARNm maduro o un pre-ARNm.

En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana es un ARN o ADN que codifica la proteína Tau de mamífero, tal como Tau humana, por ejemplo, la secuencia de pre-ARNm de MAPT humana, tal como aquella que se divulga como SEQ ID NO 1. Se proporciona información adicional sobre ácidos nucleicos diana de ejemplo en las Tablas 2 y 3.

Tabla 2. Información de genomas y de ensamblaje para Tau en diferentes especies.

Especies	Cr.	Cadena	Coordenadas genómicas Inicio Fin		Ensamblaje	Número de acceso NCBI de secuencia de referencia* para ARNm
Ser humano	17	fwd	45894382	46028334	GRCh38.p12	NG_007398.1
<i>Macaca fascicularis</i>	16	fwd	58257786	58390183	Macaca_fascicularis_5.0	Desde 58257786 hasta 58390183 en NC_022287.1

Fwd = cadena directa. Las coordenadas genómicas proporcionan la secuencia de pre-ARNm (secuencia genómica). La referencia NCBI proporciona la secuencia de ARNm (secuencia de cADN).

*La base de datos de secuencias de referencia del National Center for Biotechnology Information es un conjunto extenso, integrado, no redundante y bien referenciado de secuencias de referencia que incluyen genomas, transcritos y proteínas. Se puede acceder en www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq.

Tabla 3. Detalles de secuencias para Tau/ MAPT en diferentes especies.

Especies	Tipo de ARN	Longitud (nt)	SEQ ID NO
Ser humano	pre-ARNm	134004	1
Mono	pre-ARNm	132218	2

Secuencia diana

Como se usa en la presente, “secuencia diana” se refiere a una secuencia de nucleótidos presente en el ácido nucleico diana que comprende la secuencia de nucleobases que es complementaria del oligonucleótido de la invención. En algunas formas de realización, la secuencia diana consiste en una región en el ácido nucleico diana con una secuencia de nucleobases que es complementaria de la secuencia de nucleótidos contiguos del oligonucleótido de la invención. Esta región del ácido nucleico diana se puede denominar, de manera indistinta, secuencia de nucleótidos diana, secuencia diana o región diana. En algunas formas de realización, la secuencia diana es más larga que la secuencia complementaria de un solo oligonucleótido, y puede representar, por ejemplo, una región preferida del ácido nucleico diana sobre el cual pueden actuar varios oligonucleótidos de la invención.

En algunas formas de realización, la secuencia diana es una secuencia seleccionada de cualquier región en la Tabla 4 (R_1-R_2254). En particular, la secuencia diana se puede seleccionar de una de las regiones en el grupo de regiones que consiste en R_223, R_738 o R_1298.

Tabla 4. Regiones (reg.) en SEQ ID NO: 1 sobre las que se puede actuar usando un oligonucleótido de la invención

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_1	32	4	35	R_75_2	23	40118	40140	R_15_03	88	85545	85632
R_2	32	37	68	R_75_3	40	40209	40248	R_15_04	20	85662	85681
R_3	32	70	101	R_75_4	24	40273	40296	R_15_05	75	85710	85784
R_4	25	103	127	R_75_5	63	40301	40363	R_15_06	35	85786	85820
R_5	187	156	342	R_75_6	35	40461	40495	R_15_07	24	85822	85845
R_6	33	344	376	R_75_7	27	40497	40523	R_15_08	24	85864	85887
R_7	37	385	421	R_75_8	33	40547	40579	R_15_09	20	85879	85898
R_8	47	440	486	R_75_9	42	40587	40628	R_15_10	41	85889	85929
R_9	22	488	509	R_76_0	41	40630	40670	R_15_11	25	85964	85988
R_10	38	511	548	R_76_1	34	40697	40730	R_15_12	23	85994	86016
R_11	63	580	642	R_76_2	57	40772	40828	R_15_13	56	86064	86119
R_12	20	649	668	R_76_3	36	40831	40866	R_15_14	71	86189	86259
R_13	32	710	741	R_76_4	60	40868	40927	R_15_15	32	86266	86297

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_14	37	743	779	R_76 5	28	40941	40968	R_15 16	54	86319	86372
R_15	27	792	818	R_76 6	29	40971	40999	R_15 17	38	86383	86420
R_16	23	814	836	R_76 7	96	41031	41126	R_15 18	31	86427	86457
R_17	115	839	953	R_76 8	43	41128	41170	R_15 19	33	86478	86510
R_18	25	955	979	R_76 9	22	41218	41239	R_15 20	36	86676	86711
R_19	80	981	1060	R_77 0	28	41266	41293	R_15 21	20	86715	86734
R_20	23	1071	1093	R_77 1	25	41311	41335	R_15 22	20	86742	86761
R_21	26	1095	1120	R_77 2	50	41356	41405	R_15 23	29	86809	86837
R_22	32	1177	1208	R_77 3	55	41425	41479	R_15 24	51	86873	86923
R_23	78	1239	1316	R_77 4	23	41483	41505	R_15 25	48	86939	86986
R_24	34	1334	1367	R_77 5	47	41518	41564	R_15 26	21	86989	87009
R_25	68	1401	1468	R_77 6	36	41586	41621	R_15 27	46	87080	87125
R_26	82	1470	1551	R_77 7	77	41641	41717	R_15 28	23	87140	87162
R_27	95	1566	1660	R_77 8	48	41762	41809	R_15 29	24	87164	87187
R_28	43	1708	1750	R_77 9	42	41830	41871	R_15 30	45	87209	87253
R_29	71	1762	1832	R_78 0	57	41888	41944	R_15 31	21	87261	87281
R_30	37	1841	1877	R_78 1	25	41964	41988	R_15 32	37	87297	87333
R_31	26	1878	1903	R_78 2	30	42005	42034	R_15 33	61	87367	87427
R_32	21	1960	1980	R_78 3	31	42096	42126	R_15 34	69	87595	87663
R_33	20	1982	2001	R_78 4	30	42141	42170	R_15 35	29	87665	87693
R_34	27	2018	2044	R_78 5	32	42172	42203	R_15 36	20	87679	87698
R_35	22	2061	2082	R_78 6	56	42279	42334	R_15 37	20	87760	87779
R_36	24	2196	2219	R_78 7	63	42336	42398	R_15 38	21	87915	87935
R_37	30	2237	2266	R_78 8	44	42439	42482	R_15 39	21	87952	87972
R_38	27	2334	2360	R_78 9	29	42486	42514	R_15 40	20	87962	87981
R_39	22	2362	2383	R_79 0	30	42518	42547	R_15 41	47	88017	88063
R_40	22	2419	2440	R_79 1	24	42581	42604	R_15 42	32	88099	88130
R_41	31	2472	2502	R_79 2	32	42631	42662	R_15 43	33	88133	88165
R_42	21	2506	2526	R_79 3	24	42681	42704	R_15 44	22	88176	88197
R_43	21	2541	2561	R_79 4	21	42712	42732	R_15 45	36	88216	88251

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_44	31	2565	2595	R_79 5	49	42745	42793	R_15 46	35	88279	88313
R_45	21	2598	2618	R_79 6	35	42841	42875	R_15 47	30	88353	88382
R_46	28	2725	2752	R_79 7	45	42877	42921	R_15 48	38	88384	88421
R_47	38	2769	2806	R_79 8	22	42937	42958	R_15 49	37	88439	88475
R_48	59	2915	2973	R_79 9	20	42969	42988	R_15 50	54	88493	88546
R_49	50	2978	3027	R_80 0	45	42976	43020	R_15 51	29	88561	88589
R_50	21	3035	3055	R_80 1	20	43035	43054	R_15 52	21	88594	88614
R_51	24	3072	3095	R_80 2	72	43047	43118	R_15 53	23	88617	88639
R_52	22	3171	3192	R_80 3	23	43136	43158	R_15 54	24	88648	88671
R_53	28	3207	3234	R_80 4	56	43188	43243	R_15 55	30	88678	88707
R_54	25	3236	3260	R_80 5	20	43239	43258	R_15 56	27	88715	88741
R_55	33	3262	3294	R_80 6	20	43279	43298	R_15 57	24	88774	88797
R_56	58	3302	3359	R_80 7	27	43304	43330	R_15 58	48	88820	88867
R_57	21	3364	3384	R_80 8	30	43346	43375	R_15 59	35	88877	88911
R_58	36	3417	3452	R_80 9	64	43408	43471	R_15 60	52	88919	88970
R_59	56	3476	3531	R_81 0	52	43481	43532	R_15 61	26	88978	89003
R_60	20	3533	3552	R_81 1	22	43538	43559	R_15 62	32	89011	89042
R_61	20	3554	3573	R_81 2	29	43561	43589	R_15 63	26	89044	89069
R_62	22	3648	3669	R_81 3	37	43593	43629	R_15 64	51	89100	89150
R_63	21	3681	3701	R_81 4	24	43637	43660	R_15 65	34	89196	89229
R_64	20	3756	3775	R_81 5	21	43697	43717	R_15 66	28	89231	89258
R_65	24	3808	3831	R_81 6	21	43719	43739	R_15 67	24	89261	89284
R_66	35	3833	3867	R_81 7	34	43772	43805	R_15 68	24	89286	89309
R_67	46	3869	3914	R_81 8	21	43818	43838	R_15 69	42	89374	89415
R_68	27	3916	3942	R_81 9	72	43916	43987	R_15 70	24	89430	89453
R_69	21	3956	3976	R_82 0	23	44002	44024	R_15 71	48	89466	89513
R_70	41	4009	4049	R_82 1	26	44041	44066	R_15 72	31	89528	89558
R_71	29	4069	4097	R_82 2	43	44103	44145	R_15 73	46	89563	89608
R_72	37	4117	4153	R_82 3	44	44167	44210	R_15 74	24	89610	89633
R_73	23	4160	4182	R_82 4	73	44216	44288	R_15 75	28	89725	89752

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_74	38	4191	4228	R_82 5	23	44284	44306	R_15 76	25	89754	89778
R_75	24	4263	4286	R_82 6	38	44298	44335	R_15 77	21	89780	89800
R_76	75	4288	4362	R_82 7	56	44380	44435	R_15 78	27	89802	89828
R_77	40	4388	4427	R_82 8	20	44449	44468	R_15 79	38	89833	89870
R_78	46	4429	4474	R_82 9	50	44463	44512	R_15 80	23	89882	89904
R_79	44	4525	4568	R_83 0	21	44530	44550	R_15 81	20	89961	89980
R_80	28	4600	4627	R_83 1	25	44543	44567	R_15 82	35	89982	90016
R_81	38	4646	4683	R_83 2	38	44552	44589	R_15 83	44	90049	90092
R_82	26	4696	4721	R_83 3	28	44610	44637	R_15 84	27	90129	90155
R_83	32	4732	4763	R_83 4	25	44629	44653	R_15 85	21	90264	90284
R_84	35	4787	4821	R_83 5	45	44651	44695	R_15 86	35	90287	90321
R_85	20	4837	4856	R_83 6	28	44763	44790	R_15 87	40	90444	90483
R_86	36	4900	4935	R_83 7	21	44820	44840	R_15 88	73	90558	90630
R_87	27	5033	5059	R_83 8	32	44857	44888	R_15 89	20	90632	90651
R_88	28	5066	5093	R_83 9	47	44888	44934	R_15 90	28	90702	90729
R_89	46	5098	5143	R_84 0	20	44994	45013	R_15 91	35	90771	90805
R_90	24	5145	5168	R_84 1	21	45032	45052	R_15 92	27	90794	90820
R_91	20	5184	5203	R_84 2	23	45054	45076	R_15 93	24	90814	90837
R_92	40	5205	5244	R_84 3	22	45078	45099	R_15 94	30	90827	90856
R_93	28	5246	5273	R_84 4	38	45129	45166	R_15 95	21	90839	90859
R_94	20	5329	5348	R_84 5	21	45203	45223	R_15 96	21	90876	90896
R_95	58	5366	5423	R_84 6	66	45238	45303	R_15 97	26	90901	90926
R_96	41	5425	5465	R_84 7	33	45304	45336	R_15 98	29	90972	91000
R_97	58	5524	5581	R_84 8	37	45338	45374	R_15 99	24	91032	91055
R_98	20	5583	5602	R_84 9	35	45391	45425	R_16 00	42	91057	91098
R_99	30	5635	5664	R_85 0	24	45526	45549	R_16 01	30	91135	91164
R_100	51	5694	5744	R_85 1	25	45551	45575	R_16 02	25	91189	91213
R_101	42	5775	5816	R_85 2	27	45673	45699	R_16 03	26	91247	91272
R_102	53	5838	5890	R_85 3	69	45708	45776	R_16 04	21	91274	91294
R_103	32	5892	5923	R_85 4	48	45821	45868	R_16 05	29	91296	91324

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_104	53	5925	5977	R_85 5	37	45907	45943	R_16 06	20	91396	91415
R_105	28	6001	6028	R_85 6	42	45987	46028	R_16 07	31	91471	91501
R_106	21	6039	6059	R_85 7	37	46043	46079	R_16 08	71	91521	91591
R_107	64	6106	6169	R_85 8	36	46104	46139	R_16 09	48	91667	91714
R_108	65	6176	6240	R_85 9	30	46146	46175	R_16 10	23	91755	91777
R_109	35	6242	6276	R_86 0	25	46178	46202	R_16 11	29	91788	91816
R_110	29	6276	6304	R_86 1	21	46261	46281	R_16 12	32	91858	91889
R_111	38	6306	6343	R_86 2	50	46304	46353	R_16 13	28	91915	91942
R_112	22	6374	6395	R_86 3	40	46373	46412	R_16 14	35	91965	91999
R_113	22	6422	6443	R_86 4	29	46435	46463	R_16 15	29	92052	92080
R_114	28	6464	6491	R_86 5	27	46465	46491	R_16 16	20	92131	92150
R_115	23	6524	6546	R_86 6	36	46522	46557	R_16 17	20	92152	92171
R_116	23	6574	6596	R_86 7	37	46590	46626	R_16 18	32	92181	92212
R_117	54	6615	6668	R_86 8	22	46663	46684	R_16 19	43	92227	92269
R_118	28	6725	6752	R_86 9	60	46686	46745	R_16 20	29	92271	92299
R_119	49	6738	6786	R_87 0	34	46811	46844	R_16 21	98	92306	92403
R_120	25	6788	6812	R_87 1	28	46845	46872	R_16 22	22	92420	92441
R_121	59	6819	6877	R_87 2	85	46896	46980	R_16 23	31	92463	92493
R_122	22	6908	6929	R_87 3	23	47027	47049	R_16 24	23	92495	92517
R_123	26	6931	6956	R_87 4	69	47051	47119	R_16 25	27	92574	92600
R_124	24	6958	6981	R_87 5	62	47178	47239	R_16 26	134	92643	92776
R_125	35	6984	7018	R_87 6	42	47430	47471	R_16 27	57	92793	92849
R_126	32	7020	7051	R_87 7	20	47473	47492	R_16 28	43	92866	92908
R_127	23	7097	7119	R_87 8	38	47519	47556	R_16 29	45	92910	92954
R_128	83	7121	7203	R_87 9	33	47605	47637	R_16 30	26	92956	92981
R_129	21	7205	7225	R_88 0	34	47652	47685	R_16 31	23	92983	93005
R_130	32	7242	7273	R_88 1	33	47699	47731	R_16 32	46	93007	93052
R_131	20	7289	7308	R_88 2	29	47733	47761	R_16 33	30	93022	93051
R_132	21	7376	7396	R_88 3	36	47769	47804	R_16 34	22	93094	93115
R_133	20	7397	7416	R_88 4	22	47806	47827	R_16 35	21	93117	93137

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_134	23	7439	7461	R_88 5	28	47848	47875	R_16 36	39	93139	93177
R_135	23	7463	7485	R_88 6	31	47999	48029	R_16 37	117	93214	93330
R_136	28	7492	7519	R_88 7	36	48043	48078	R_16 38	37	93359	93395
R_137	26	7569	7594	R_88 8	37	48080	48116	R_16 39	46	93409	93454
R_138	38	7622	7659	R_88 9	42	48118	48159	R_16 40	32	93508	93539
R_139	25	7705	7729	R_89 0	78	48195	48272	R_16 41	28	93541	93568
R_140	20	7705	7724	R_89 1	70	48294	48363	R_16 42	33	93570	93602
R_141	28	7774	7801	R_89 2	28	48377	48404	R_16 43	22	93647	93668
R_142	20	7855	7874	R_89 3	20	48406	48425	R_16 44	26	93674	93699
R_143	23	7885	7907	R_89 4	22	48438	48459	R_16 45	28	93716	93743
R_144	35	7933	7967	R_89 5	20	48485	48504	R_16 46	72	93770	93841
R_145	21	7937	7957	R_89 6	23	48532	48554	R_16 47	36	93897	93932
R_146	20	7937	7956	R_89 7	32	48564	48595	R_16 48	25	94007	94031
R_147	23	7948	7970	R_89 8	43	48627	48669	R_16 49	25	94121	94145
R_148	26	7952	7977	R_89 9	32	48671	48702	R_16 50	20	94227	94246
R_149	25	7953	7977	R_90 0	30	48744	48773	R_16 51	69	94295	94363
R_150	30	8009	8038	R_90 1	24	48782	48805	R_16 52	49	94371	94419
R_151	31	8043	8073	R_90 2	21	48797	48817	R_16 53	40	94426	94465
R_152	20	8125	8144	R_90 3	22	48802	48823	R_16 54	73	94478	94550
R_153	21	8146	8166	R_90 4	54	48808	48861	R_16 55	35	94571	94605
R_154	36	8168	8203	R_90 5	38	48924	48961	R_16 56	63	94607	94669
R_155	44	8245	8288	R_90 6	20	48966	48985	R_16 57	41	94788	94828
R_156	29	8324	8352	R_90 7	25	49010	49034	R_16 58	73	94844	94916
R_157	43	8355	8397	R_90 8	21	49067	49087	R_16 59	21	94929	94949
R_158	23	8399	8421	R_90 9	61	49145	49205	R_16 60	21	94979	94999
R_159	26	8457	8482	R_91 0	81	49207	49287	R_16 61	31	95087	95117
R_160	54	8486	8539	R_91 1	35	49289	49323	R_16 62	25	95173	95197
R_161	43	8541	8583	R_91 2	41	49325	49365	R_16 63	23	95244	95266
R_162	26	8585	8610	R_91 3	99	49400	49498	R_16 64	38	95278	95315
R_163	26	8637	8662	R_91 4	30	49507	49536	R_16 65	28	95355	95382

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_164	37	8678	8714	R_91 5	24	49538	49561	R_16 66	95	95390	95484
R_165	24	8742	8765	R_91 6	23	49563	49585	R_16 67	159	95486	95644
R_166	37	8812	8848	R_91 7	27	49612	49638	R_16 68	30	95646	95675
R_167	37	8868	8904	R_91 8	33	49654	49686	R_16 69	101	95695	95795
R_168	21	9015	9035	R_91 9	37	49697	49733	R_16 70	33	95807	95839
R_169	28	9065	9092	R_92 0	28	49751	49778	R_16 71	24	95863	95886
R_170	20	9180	9199	R_92 1	20	49870	49889	R_16 72	22	95888	95909
R_171	23	9191	9213	R_92 2	42	49890	49931	R_16 73	31	95915	95945
R_172	24	9203	9226	R_92 3	38	49964	50001	R_16 74	30	95951	95980
R_173	28	9215	9242	R_92 4	106	50003	50108	R_16 75	28	96033	96060
R_174	21	9244	9264	R_92 5	29	50110	50138	R_16 76	37	96057	96093
R_175	23	9260	9282	R_92 6	24	50394	50417	R_16 77	28	96159	96186
R_176	25	9266	9290	R_92 7	42	50473	50514	R_16 78	40	96287	96326
R_177	23	9266	9288	R_92 8	27	50578	50604	R_16 79	43	96331	96373
R_178	24	9267	9290	R_92 9	42	50606	50647	R_16 80	39	96450	96488
R_179	21	9267	9287	R_93 0	42	50692	50733	R_16 81	30	96492	96521
R_180	22	9267	9288	R_93 1	20	50763	50782	R_16 82	44	96523	96566
R_181	23	9268	9290	R_93 2	34	50808	50841	R_16 83	22	96589	96610
R_182	21	9270	9290	R_93 3	48	50847	50894	R_16 84	22	96655	96676
R_183	23	9289	9311	R_93 4	55	50955	51009	R_16 85	52	96714	96765
R_184	20	9292	9311	R_93 5	21	51011	51031	R_16 86	23	96776	96798
R_185	22	9330	9351	R_93 6	58	51071	51128	R_16 87	25	96798	96822
R_186	20	9334	9353	R_93 7	85	51138	51222	R_16 88	36	96838	96873
R_187	22	10083	10104	R_93 8	22	51273	51294	R_16 89	44	96895	96938
R_188	23	10092	10114	R_93 9	40	51330	51369	R_16 90	21	96940	96960
R_189	38	10119	10156	R_94 0	20	51343	51362	R_16 91	24	96993	97016
R_190	20	10255	10274	R_94 1	71	51498	51568	R_16 92	24	97038	97061
R_191	21	10257	10277	R_94 2	35	51570	51604	R_16 93	22	97073	97094
R_192	28	10305	10332	R_94 3	20	51639	51658	R_16 94	25	97106	97130
R_193	63	10358	10420	R_94 4	31	51680	51710	R_16 95	20	97132	97151

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_194	28	10498	10525	R_94 5	75	51712	51786	R_16 96	23	97162	97184
R_195	27	10597	10623	R_94 6	57	51788	51844	R_16 97	38	97186	97223
R_196	24	10625	10648	R_94 7	57	51846	51902	R_16 98	32	97225	97256
R_197	56	10666	10721	R_94 8	33	51928	51960	R_16 99	41	97258	97298
R_198	27	10741	10767	R_94 9	33	51962	51994	R_17 00	34	97300	97333
R_199	21	10777	10797	R_95 0	20	52012	52031	R_17 01	20	97342	97361
R_200	38	10799	10836	R_95 1	52	52024	52075	R_17 02	21	97486	97506
R_201	30	10840	10869	R_95 2	20	52183	52202	R_17 03	24	97532	97555
R_202	24	10871	10894	R_95 3	31	52316	52346	R_17 04	20	97592	97611
R_203	30	10911	10940	R_95 4	54	52348	52401	R_17 05	21	97606	97626
R_204	49	10942	10990	R_95 5	24	52408	52431	R_17 06	20	97690	97709
R_205	21	10992	11012	R_95 6	25	52433	52457	R_17 07	43	97694	97736
R_206	69	11018	11086	R_95 7	68	52452	52519	R_17 08	26	97740	97765
R_207	30	11089	11118	R_95 8	42	52521	52562	R_17 09	28	97767	97794
R_208	42	11127	11168	R_95 9	41	52569	52609	R_17 10	64	97820	97883
R_209	25	11193	11217	R_96 0	21	52626	52646	R_17 11	32	97928	97959
R_210	68	11279	11346	R_96 1	21	52676	52696	R_17 12	40	98008	98047
R_211	42	11367	11408	R_96 2	71	52704	52774	R_17 13	49	98103	98151
R_212	43	11410	11452	R_96 3	31	52784	52814	R_17 14	33	98166	98198
R_213	54	11458	11511	R_96 4	22	52826	52847	R_17 15	26	98200	98225
R_214	79	11556	11634	R_96 5	25	52874	52898	R_17 16	32	98324	98355
R_215	37	11648	11684	R_96 6	80	52915	52994	R_17 17	21	98333	98353
R_216	31	11691	11721	R_96 7	21	53027	53047	R_17 18	21	98467	98487
R_217	28	11724	11751	R_96 8	44	53130	53173	R_17 19	22	98506	98527
R_218	81	11800	11880	R_96 9	21	53175	53195	R_17 20	31	98577	98607
R_219	20	11905	11924	R_97 0	24	53181	53204	R_17 21	32	98681	98712
R_220	21	11928	11948	R_97 1	22	53233	53254	R_17 22	23	98751	98773
R_221	50	11950	11999	R_97 2	20	53262	53281	R_17 23	37	98789	98825
R_222	20	12030	12049	R_97 3	22	53315	53336	R_17 24	37	98930	98966
R_223	61	12051	12111	R_97 4	20	53352	53371	R_17 25	40	98969	99008

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_224	23	12147	12169	R_97 5	72	53390	53461	R_17 26	21	99015	99035
R_225	25	12171	12195	R_97 6	42	53473	53514	R_17 27	45	99231	99275
R_226	23	12197	12219	R_97 7	25	53534	53558	R_17 28	38	99345	99382
R_227	45	12221	12265	R_97 8	30	53560	53589	R_17 29	46	99387	99432
R_228	43	12304	12346	R_97 9	23	53600	53622	R_17 30	25	99434	99458
R_229	51	12353	12403	R_98 0	28	53637	53664	R_17 31	21	99515	99535
R_230	23	12405	12427	R_98 1	24	53696	53719	R_17 32	23	99565	99587
R_231	62	12475	12536	R_98 2	21	53738	53758	R_17 33	21	99658	99678
R_232	28	12538	12565	R_98 3	22	53753	53774	R_17 34	43	99718	99760
R_233	28	12587	12614	R_98 4	23	53759	53781	R_17 35	30	99762	99791
R_234	21	12615	12635	R_98 5	30	53793	53822	R_17 36	62	99820	99881
R_235	29	12637	12665	R_98 6	23	53895	53917	R_17 37	21	99933	99953
R_236	38	12684	12721	R_98 7	25	53910	53934	R_17 38	26	99986	100011
R_237	34	12746	12779	R_98 8	21	53979	53999	R_17 39	29	100013	100041
R_238	20	12799	12818	R_98 9	20	53996	54015	R_17 40	71	100063	100133
R_239	33	12822	12854	R_99 0	21	54027	54047	R_17 41	32	100169	100200
R_240	37	12856	12892	R_99 1	28	54049	54076	R_17 42	21	100248	100268
R_241	20	12894	12913	R_99 2	40	54162	54201	R_17 43	30	100263	100292
R_242	23	12933	12955	R_99 3	20	54218	54237	R_17 44	38	100296	100333
R_243	50	13057	13106	R_99 4	77	54239	54315	R_17 45	22	100359	100380
R_244	37	13133	13169	R_99 5	50	54317	54366	R_17 46	23	100375	100397
R_245	51	13227	13277	R_99 6	21	54368	54388	R_17 47	23	100384	100406
R_246	22	13348	13369	R_99 7	32	54406	54437	R_17 48	24	100639	100662
R_247	29	13380	13408	R_99 8	33	54439	54471	R_17 49	24	100645	100668
R_248	41	13410	13450	R_99 9	20	54507	54526	R_17 50	20	100666	100685
R_249	32	13452	13483	R_10 00	55	54528	54582	R_17 51	23	100695	100717
R_250	45	13483	13527	R_10 01	21	54584	54604	R_17 52	20	100746	100765
R_251	32	13529	13560	R_10 02	42	54606	54647	R_17 53	34	100771	100804
R_252	21	13569	13589	R_10 03	118	54651	54768	R_17 54	21	100801	100821
R_253	50	13591	13640	R_10 04	23	54833	54855	R_17 55	26	100823	100848

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_254	88	13770	13857	R_10 05	28	54857	54884	R_17 56	20	100857	100876
R_255	20	13861	13880	R_10 06	57	54887	54943	R_17 57	34	100899	100932
R_256	32	13882	13913	R_10 07	29	54973	55001	R_17 58	21	100965	100985
R_257	55	13936	13990	R_10 08	21	55014	55034	R_17 59	32	101017	101048
R_258	39	13992	14030	R_10 09	28	55074	55101	R_17 60	21	101085	101105
R_259	34	14033	14066	R_10 10	21	55134	55154	R_17 61	26	101195	101220
R_260	35	14068	14102	R_10 11	38	55171	55208	R_17 62	23	101227	101249
R_261	27	14104	14130	R_10 12	31	55210	55240	R_17 63	30	101324	101353
R_262	20	14140	14159	R_10 13	80	55248	55327	R_17 64	20	101357	101376
R_263	51	14180	14230	R_10 14	25	55329	55353	R_17 65	21	101415	101435
R_264	20	14232	14251	R_10 15	23	55365	55387	R_17 66	20	101444	101463
R_265	107	14253	14359	R_10 16	43	55424	55466	R_17 67	37	101465	101501
R_266	72	14367	14438	R_10 17	51	55539	55589	R_17 68	25	101497	101521
R_267	69	14503	14571	R_10 18	27	55591	55617	R_17 69	42	101523	101564
R_268	27	14595	14621	R_10 19	29	55619	55647	R_17 70	26	101576	101601
R_269	35	14629	14663	R_10 20	30	55653	55682	R_17 71	34	101620	101653
R_270	58	14732	14789	R_10 21	29	55724	55752	R_17 72	36	101679	101714
R_271	25	14805	14829	R_10 22	33	55778	55810	R_17 73	39	101734	101772
R_272	56	14851	14906	R_10 23	76	55848	55923	R_17 74	24	101779	101802
R_273	53	14954	15006	R_10 24	33	55992	56024	R_17 75	71	101817	101887
R_274	39	15026	15064	R_10 25	29	56026	56054	R_17 76	67	101913	101979
R_275	21	15066	15086	R_10 26	59	56080	56138	R_17 77	28	101989	102016
R_276	22	15138	15159	R_10 27	26	56155	56180	R_17 78	28	102025	102052
R_277	107	15157	15263	R_10 28	22	56196	56217	R_17 79	33	102054	102086
R_278	24	15249	15272	R_10 29	21	56225	56245	R_17 80	23	102088	102110
R_279	22	15277	15298	R_10 30	31	56274	56304	R_17 81	44	102112	102155
R_280	38	15300	15337	R_10 31	24	56338	56361	R_17 82	22	102161	102182
R_281	24	15414	15437	R_10 32	22	56410	56431	R_17 83	65	102202	102266
R_282	21	15476	15496	R_10 33	36	56433	56468	R_17 84	23	102268	102290
R_283	23	15617	15639	R_10 34	22	56521	56542	R_17 85	35	102292	102326

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_284	58	15671	15728	R_10 35	30	56567	56596	R_17 86	32	102352	1023 83
R_285	36	15730	15765	R_10 36	55	56641	56695	R_17 87	29	102385	1024 13
R_286	29	15840	15868	R_10 37	44	56697	56740	R_17 88	29	102526	1025 54
R_287	27	15870	15896	R_10 38	43	56761	56803	R_17 89	77	102579	1026 55
R_288	50	15926	15975	R_10 39	72	56805	56876	R_17 90	39	102744	1027 82
R_289	27	16008	16034	R_10 40	30	56885	56914	R_17 91	32	102841	1028 72
R_290	46	16109	16154	R_10 41	44	56916	56959	R_17 92	22	103017	1030 38
R_291	27	16159	16185	R_10 42	67	56961	57027	R_17 93	20	103118	1031 37
R_292	30	16245	16274	R_10 43	30	57033	57062	R_17 94	20	103196	1032 15
R_293	44	16296	16339	R_10 44	20	57167	57186	R_17 95	23	103346	1033 68
R_294	20	16316	16335	R_10 45	49	57211	57259	R_17 96	24	103400	1034 23
R_295	48	16371	16418	R_10 46	24	57348	57371	R_17 97	27	103456	1034 82
R_296	36	16447	16482	R_10 47	43	57434	57476	R_17 98	54	103494	1035 47
R_297	36	16485	16520	R_10 48	73	57536	57608	R_17 99	21	103557	1035 77
R_298	26	16532	16557	R_10 49	86	57641	57726	R_18 00	34	103637	1036 70
R_299	21	16582	16602	R_10 50	27	57754	57780	R_18 01	58	103683	1037 40
R_300	83	16604	16686	R_10 51	20	57786	57805	R_18 02	25	103782	1038 06
R_301	63	16688	16750	R_10 52	21	57807	57827	R_18 03	20	103851	1038 70
R_302	75	16766	16840	R_10 53	27	57829	57855	R_18 04	26	103876	1039 01
R_303	24	16918	16941	R_10 54	41	57857	57897	R_18 05	21	103997	1040 17
R_304	32	16947	16978	R_10 55	51	57899	57949	R_18 06	49	104093	1041 41
R_305	31	17007	17037	R_10 56	26	57981	58006	R_18 07	61	104143	1042 03
R_306	45	17039	17083	R_10 57	48	58008	58055	R_18 08	28	104263	1042 90
R_307	25	17085	17109	R_10 58	26	58057	58082	R_18 09	22	104331	1043 52
R_308	30	17111	17140	R_10 59	32	58097	58128	R_18 10	24	104354	1043 77
R_309	29	17179	17207	R_10 60	40	58138	58177	R_18 11	36	104379	1044 14
R_310	34	17292	17325	R_10 61	38	58192	58229	R_18 12	72	104416	1044 87
R_311	28	17292	17319	R_10 62	26	58235	58260	R_18 13	23	104504	1045 26
R_312	28	17309	17336	R_10 63	57	58375	58431	R_18 14	54	104544	1045 97
R_313	21	17316	17336	R_10 64	25	58444	58468	R_18 15	20	104599	1046 18

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_314	21	17319	17339	R_10_65	55	58484	58538	R_18_16	22	104632	104653
R_315	22	17326	17347	R_10_66	26	58555	58580	R_18_17	25	104710	104734
R_316	52	17349	17400	R_10_67	20	58582	58601	R_18_18	22	104738	104759
R_317	20	17416	17435	R_10_68	23	58604	58626	R_18_19	40	104783	104822
R_318	39	17445	17483	R_10_69	32	58650	58681	R_18_20	42	104824	104865
R_319	43	17485	17527	R_10_70	70	58740	58809	R_18_21	21	104919	104939
R_320	74	17587	17660	R_10_71	32	58889	58920	R_18_22	23	105014	105036
R_321	38	17667	17704	R_10_72	25	58927	58951	R_18_23	58	105040	105097
R_322	25	17706	17730	R_10_73	22	58953	58974	R_18_24	25	105111	105135
R_323	45	17796	17840	R_10_74	35	58993	59027	R_18_25	50	105137	105186
R_324	53	17855	17907	R_10_75	48	59029	59076	R_18_26	22	105188	105209
R_325	44	17909	17952	R_10_76	45	59079	59123	R_18_27	40	105283	105322
R_326	20	17954	17973	R_10_77	31	59125	59155	R_18_28	31	105393	105423
R_327	34	17975	18008	R_10_78	31	59183	59213	R_18_29	29	105427	105455
R_328	20	18010	18029	R_10_79	20	59243	59262	R_18_30	72	105457	105528
R_329	46	18031	18076	R_10_80	35	59264	59298	R_18_31	30	105544	105573
R_330	26	18078	18103	R_10_81	24	59303	59326	R_18_32	39	105683	105721
R_331	29	18136	18164	R_10_82	39	59328	59366	R_18_33	36	105732	105767
R_332	33	18208	18240	R_10_83	31	59380	59410	R_18_34	23	106011	106033
R_333	54	18261	18314	R_10_84	20	59490	59509	R_18_35	45	106334	106378
R_334	22	18333	18354	R_10_85	39	59551	59589	R_18_36	21	106380	106400
R_335	34	18410	18443	R_10_86	76	59591	59666	R_18_37	23	106407	106429
R_336	27	18446	18472	R_10_87	46	59713	59758	R_18_38	23	106475	106497
R_337	86	18474	18559	R_10_88	26	59837	59862	R_18_39	47	106562	106608
R_338	25	18590	18614	R_10_89	40	59878	59917	R_18_40	42	106645	106686
R_339	21	18627	18647	R_10_90	23	59957	59979	R_18_41	44	106677	106720
R_340	37	18650	18686	R_10_91	37	59998	60034	R_18_42	29	106677	106705
R_341	33	18688	18720	R_10_92	63	60133	60195	R_18_43	22	106728	106749
R_342	30	18742	18771	R_10_93	22	60201	60222	R_18_44	40	106783	106822
R_343	20	18773	18792	R_10_94	23	60281	60303	R_18_45	22	106824	106845

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_344	32	18782	18813	R_10 95	37	60291	60327	R_18 46	31	106847	106877
R_345	20	18843	18862	R_10 96	27	60360	60386	R_18 47	31	106879	106909
R_346	24	18864	18887	R_10 97	23	60429	60451	R_18 48	64	106923	106986
R_347	24	18900	18923	R_10 98	52	60536	60587	R_18 49	35	106988	107022
R_348	35	18935	18969	R_10 99	24	60605	60628	R_18 50	35	107046	107080
R_349	38	18971	19008	R_11 00	28	60656	60683	R_18 51	26	107085	107110
R_350	23	19080	19102	R_11 01	90	60703	60792	R_18 52	25	107122	107146
R_351	51	19106	19156	R_11 02	48	60794	60841	R_18 53	40	107239	107278
R_352	21	19158	19178	R_11 03	49	60841	60889	R_18 54	57	107338	107394
R_353	25	19262	19286	R_11 04	31	60921	60951	R_18 55	36	107405	107440
R_354	22	19310	19331	R_11 05	21	60953	60973	R_18 56	22	107442	107463
R_355	28	19333	19360	R_11 06	30	60979	61008	R_18 57	22	107465	107486
R_356	24	19362	19385	R_11 07	23	61040	61062	R_18 58	22	107506	107527
R_357	44	19394	19437	R_11 08	20	61117	61136	R_18 59	28	107553	107580
R_358	47	19493	19539	R_11 09	22	61148	61169	R_18 60	53	107582	107634
R_359	26	19569	19594	R_11 10	106	61165	61270	R_18 61	37	107639	107675
R_360	34	19624	19657	R_11 11	21	61274	61294	R_18 62	34	107679	107712
R_361	38	19659	19696	R_11 12	25	61392	61416	R_18 63	36	107775	107810
R_362	32	19713	19744	R_11 13	22	61447	61468	R_18 64	25	107868	107929
R_363	56	19746	19801	R_11 14	25	61486	61510	R_18 65	24	107893	107916
R_364	43	19839	19881	R_11 15	23	61495	61517	R_18 66	24	108016	108039
R_365	24	19894	19917	R_11 16	27	61518	61544	R_18 67	42	108071	108112
R_366	24	19960	19983	R_11 17	23	61586	61608	R_18 68	21	108176	108196
R_367	21	19985	20005	R_11 18	32	61646	61677	R_18 69	30	108213	108242
R_368	30	20006	20035	R_11 19	34	61784	61817	R_18 70	72	108263	108334
R_369	21	20037	20057	R_11 20	23	61870	61892	R_18 71	32	108390	108421
R_370	20	20069	20088	R_11 21	43	61904	61946	R_18 72	27	108441	108467
R_371	20	20151	20170	R_11 22	22	61948	61969	R_18 73	31	108479	108509
R_372	25	20182	20206	R_11 23	33	61997	62029	R_18 74	21	108524	108544
R_373	22	20237	20258	R_11 24	21	62076	62096	R_18 75	58	108546	108603

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_374	22	20267	20288	R_11 25	22	62103	62124	R_18 76	33	108669	108701
R_375	27	20363	20389	R_11 26	20	62133	62152	R_18 77	26	108721	108746
R_376	25	20375	20399	R_11 27	26	62162	62187	R_18 78	30	108822	108851
R_377	21	20482	20502	R_11 28	20	62239	62258	R_18 79	32	108859	108890
R_378	27	20485	20511	R_11 29	24	62243	62266	R_18 80	30	108909	108938
R_379	22	20497	20518	R_11 30	20	62266	62285	R_18 81	41	108996	109036
R_380	24	20566	20589	R_11 31	24	62307	62330	R_18 82	43	109038	109080
R_381	22	20591	20612	R_11 32	27	62332	62358	R_18 83	22	109104	109125
R_382	20	20610	20629	R_11 33	22	62433	62454	R_18 84	41	109145	109185
R_383	22	20679	20700	R_11 34	22	62561	62582	R_18 85	25	109237	109261
R_384	28	20702	20729	R_11 35	50	62600	62649	R_18 86	41	109263	109303
R_385	35	20741	20775	R_11 36	29	62678	62706	R_18 87	34	109306	109339
R_386	43	20790	20832	R_11 37	32	62708	62739	R_18 88	48	109355	109402
R_387	35	20880	20914	R_11 38	20	62846	62865	R_18 89	20	109404	109423
R_388	22	20892	20913	R_11 39	46	62871	62916	R_18 90	28	109425	109452
R_389	21	21011	21031	R_11 40	23	62945	62967	R_18 91	31	109454	109484
R_390	26	21138	21163	R_11 41	52	62978	63029	R_18 92	20	109494	109513
R_391	20	21158	21177	R_11 42	43	63043	63085	R_18 93	25	109519	109543
R_392	24	21248	21271	R_11 43	31	63087	63117	R_18 94	60	109554	109593
R_393	26	21324	21349	R_11 44	35	63119	63153	R_18 95	34	109631	109664
R_394	35	21351	21385	R_11 45	31	63155	63185	R_18 96	26	109666	109691
R_395	29	21441	21469	R_11 46	54	63193	63246	R_18 97	22	109693	109714
R_396	53	21557	21609	R_11 47	23	63249	63271	R_18 98	23	109757	109779
R_397	31	21611	21641	R_11 48	29	63362	63390	R_18 99	34	109822	109855
R_398	38	21645	21682	R_11 49	33	63404	63436	R_19 00	23	109866	109888
R_399	40	21743	21782	R_11 50	33	63462	63494	R_19 01	140	109935	110074
R_400	59	21819	21877	R_11 51	27	63501	63527	R_19 02	20	110077	110096
R_401	20	21949	21968	R_11 52	29	63569	63597	R_19 03	29	110137	110165
R_402	27	22001	22027	R_11 53	36	63599	63634	R_19 04	29	110216	110244
R_403	63	22041	22103	R_11 54	20	63634	63653	R_19 05	32	110254	110285

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_404	53	22125	22177	R_11_55	46	63769	63814	R_19_06	33	110294	110326
R_405	48	22179	22226	R_11_56	20	63826	63845	R_19_07	31	110328	110358
R_406	20	22247	22266	R_11_57	24	63848	63871	R_19_08	44	110383	110426
R_407	48	22277	22324	R_11_58	54	63873	63926	R_19_09	24	110421	110444
R_408	31	22334	22364	R_11_59	48	63941	63988	R_19_10	20	110563	110582
R_409	105	22370	22474	R_11_60	45	63990	64034	R_19_11	32	110584	110615
R_410	37	22475	22511	R_11_61	20	64059	64078	R_19_12	28	110598	110625
R_411	32	22644	22675	R_11_62	20	64322	64341	R_19_13	54	110612	110665
R_412	34	22686	22719	R_11_63	20	64382	64401	R_19_14	29	110781	110809
R_413	28	22763	22790	R_11_64	24	64487	64510	R_19_15	51	110823	110873
R_414	34	22792	22825	R_11_65	34	64532	64565	R_19_16	22	110875	110896
R_415	22	22844	22865	R_11_66	27	64550	64576	R_19_17	27	110899	110925
R_416	23	22875	22897	R_11_67	24	65195	65218	R_19_18	25	110992	111016
R_417	27	22959	22985	R_11_68	20	65195	65214	R_19_19	38	111036	111073
R_418	22	22990	23011	R_11_69	28	65736	65763	R_19_20	26	111108	111133
R_419	23	23019	23041	R_11_70	30	65810	65839	R_19_21	20	111141	111160
R_420	49	23066	23114	R_11_71	26	65850	65875	R_19_22	21	111162	111182
R_421	35	23131	23165	R_11_72	32	65877	65908	R_19_23	35	111184	111218
R_422	22	23168	23189	R_11_73	29	65917	65945	R_19_24	22	111234	111255
R_423	46	23191	23236	R_11_74	55	66048	66102	R_19_25	20	111298	111317
R_424	45	23238	23282	R_11_75	41	66123	66163	R_19_26	26	111319	111344
R_425	23	23318	23340	R_11_76	37	66165	66201	R_19_27	61	111403	111463
R_426	21	23497	23517	R_11_77	66	66203	66268	R_19_28	57	111467	111523
R_427	24	23518	23541	R_11_78	49	66291	66339	R_19_29	23	111525	111547
R_428	22	23562	23583	R_11_79	34	66392	66425	R_19_30	24	111567	111590
R_429	26	23585	23610	R_11_80	45	66469	66513	R_19_31	26	111592	111617
R_430	46	23626	23671	R_11_81	23	66545	66567	R_19_32	24	111631	111654
R_431	34	23637	23670	R_11_82	27	66591	66617	R_19_33	22	111666	111687
R_432	21	23650	23670	R_11_83	24	66635	66658	R_19_34	21	111692	111712
R_433	28	23718	23745	R_11_84	22	66660	66681	R_19_35	49	111732	111780

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_434	87	23748	23834	R_11 85	49	66690	66738	R_19 36	31	111815	111845
R_435	41	23836	23876	R_11 86	29	66755	66783	R_19 37	21	111908	111928
R_436	30	23889	23918	R_11 87	36	66789	66824	R_19 38	39	111934	111972
R_437	83	23975	24057	R_11 88	23	66792	66814	R_19 39	26	111974	111999
R_438	99	24059	24157	R_11 89	23	66865	66887	R_19 40	58	112001	112058
R_439	37	24219	24255	R_11 90	27	66889	66915	R_19 41	28	112064	112091
R_440	33	24319	24351	R_11 91	48	66991	67038	R_19 42	24	112066	112089
R_441	20	24342	24361	R_11 92	24	67116	67139	R_19 43	21	112122	112142
R_442	71	24354	24424	R_11 93	24	67155	67178	R_19 44	24	112157	112180
R_443	28	24447	24474	R_11 94	27	67185	67211	R_19 45	21	112221	112241
R_444	21	24515	24535	R_11 95	35	67231	67265	R_19 46	26	112253	112278
R_445	31	24536	24566	R_11 96	20	67316	67335	R_19 47	23	112428	112450
R_446	20	24552	24571	R_11 97	23	67337	67359	R_19 48	26	112444	112469
R_447	26	24592	24617	R_11 98	31	67361	67391	R_19 49	30	112501	112530
R_448	26	24656	24681	R_11 99	37	67467	67503	R_19 50	20	112511	112530
R_449	25	24716	24740	R_12 00	27	67498	67524	R_19 51	69	112757	112785
R_450	20	24721	24740	R_12 01	23	67499	67521	R_19 52	20	112884	112903
R_451	57	24817	24873	R_12 02	37	67517	67553	R_19 53	44	112905	112948
R_452	41	24903	24943	R_12 03	26	67604	67629	R_19 54	28	112979	113006
R_453	26	24958	24983	R_12 04	25	67624	67648	R_19 55	62	113062	113093
R_454	20	24985	25004	R_12 05	26	67708	67733	R_19 56	36	113141	113176
R_455	48	25014	25061	R_12 06	21	67806	67826	R_19 57	23	113172	113194
R_456	55	25122	25176	R_12 07	27	67877	67903	R_19 58	26	113203	113228
R_457	29	25178	25206	R_12 08	43	67905	67947	R_19 59	37	113277	113313
R_458	25	25249	25273	R_12 09	36	67987	68022	R_19 60	32	113364	113395
R_459	30	25279	25308	R_12 10	50	68024	68073	R_19 61	43	113397	113439
R_460	40	25310	25349	R_12 11	92	68092	68183	R_19 62	118	113452	113569
R_461	53	25369	25421	R_12 12	24	68216	68239	R_19 63	46	113572	113597
R_462	52	25427	25478	R_12 13	52	68257	68308	R_19 64	21	113628	113648
R_463	66	25514	25579	R_12 14	32	68390	68421	R_19 65	21	113662	113682

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_464	21	25618	25638	R_12_15	48	68442	68489	R_19_66	36	113690	113725
R_465	51	25679	25729	R_12_16	20	68486	68505	R_19_67	32	113729	113760
R_466	39	25731	25769	R_12_17	21	68546	68566	R_19_68	28	113782	113809
R_467	28	25825	25852	R_12_18	25	68556	68580	R_19_69	21	113997	114017
R_468	72	25881	25952	R_12_19	20	68561	68580	R_19_70	22	114007	114028
R_469	23	25964	25986	R_12_20	23	68610	68632	R_19_71	57	114039	114095
R_470	59	25988	26046	R_12_21	25	68679	68703	R_19_72	32	114174	114205
R_471	25	26061	26085	R_12_22	35	68736	68770	R_19_73	28	114235	114262
R_472	34	26088	26121	R_12_23	62	68806	68867	R_19_74	21	114349	114369
R_473	24	26162	26185	R_12_24	22	68885	68906	R_19_75	38	114395	114432
R_474	30	26194	26223	R_12_25	22	68908	68929	R_19_76	31	114434	114464
R_475	28	26233	26260	R_12_26	20	68931	68950	R_19_77	20	114529	114548
R_476	38	26335	26372	R_12_27	29	68950	68978	R_19_78	34	114624	114657
R_477	24	26395	26418	R_12_28	34	69017	69050	R_19_79	65	114711	114775
R_478	24	26455	26478	R_12_29	25	69053	69077	R_19_80	22	114904	114925
R_479	27	26480	26506	R_12_30	20	69083	69102	R_19_81	42	114930	114971
R_480	42	26521	26562	R_12_31	27	69123	69149	R_19_82	22	114982	115003
R_481	67	26684	26750	R_12_32	30	69160	69189	R_19_83	20	115005	115024
R_482	24	26752	26775	R_12_33	35	69210	69244	R_19_84	42	115026	115067
R_483	35	26822	26856	R_12_34	53	69248	69300	R_19_85	28	115092	115119
R_484	22	26937	26958	R_12_35	23	69304	69326	R_19_86	57	115121	115177
R_485	38	26984	27021	R_12_36	34	69393	69426	R_19_87	28	115179	115206
R_486	24	27022	27045	R_12_37	29	69428	69456	R_19_88	31	115228	115258
R_487	54	27053	27106	R_12_38	45	69458	69502	R_19_89	24	115263	115286
R_488	91	27154	27244	R_12_39	43	69547	69589	R_19_90	37	115306	115342
R_489	35	27283	27317	R_12_40	20	69601	69620	R_19_91	44	115361	115404
R_490	25	27339	27363	R_12_41	20	69633	69652	R_19_92	20	115467	115486
R_491	75	27386	27460	R_12_42	29	69656	69684	R_19_93	30	115628	115657
R_492	41	27493	27533	R_12_43	39	69705	69743	R_19_94	26	115665	115690
R_493	22	27602	27623	R_12_44	42	69769	69810	R_19_95	34	115687	115720

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_494	33	27631	27663	R_12_45	22	69829	69850	R_19_96	28	115804	115831
R_495	23	27691	27713	R_12_46	28	69912	69939	R_19_97	26	115833	115858
R_496	33	27736	27768	R_12_47	32	69941	69972	R_19_98	27	115937	115963
R_497	24	27752	27775	R_12_48	31	70029	70059	R_19_99	119	115965	116083
R_498	26	27777	27802	R_12_49	41	70065	70105	R_20_00	23	116085	116107
R_499	20	27777	27796	R_12_50	27	70162	70188	R_20_01	42	116121	116162
R_500	23	27778	27800	R_12_51	43	70200	70242	R_20_02	33	116193	116225
R_501	30	27859	27888	R_12_52	20	70217	70236	R_20_03	24	116276	116299
R_502	38	27909	27946	R_12_53	20	70345	70364	R_20_04	26	116356	116381
R_503	49	27956	28004	R_12_54	35	70366	70400	R_20_05	29	116405	116433
R_504	45	28071	28115	R_12_55	57	70433	70489	R_20_06	46	116441	116486
R_505	33	28124	28156	R_12_56	21	70515	70535	R_20_07	29	116488	116516
R_506	20	28152	28171	R_12_57	26	70537	70562	R_20_08	40	116518	116557
R_507	24	28181	28204	R_12_58	40	70583	70622	R_20_09	46	116653	116698
R_508	25	28251	28275	R_12_59	20	70657	70676	R_20_10	28	116700	116727
R_509	33	28295	28327	R_12_60	22	70688	70709	R_20_11	46	116729	116774
R_510	28	28345	28372	R_12_61	34	70723	70756	R_20_12	43	116927	116969
R_511	51	28383	28433	R_12_62	23	70758	70780	R_20_13	32	116997	117028
R_512	38	28441	28478	R_12_63	21	70782	70802	R_20_14	23	117043	117065
R_513	24	28553	28576	R_12_64	21	70808	70828	R_20_15	35	117068	117102
R_514	37	28598	28634	R_12_65	26	70818	70843	R_20_16	28	117148	117175
R_515	35	28669	28703	R_12_66	31	70912	70942	R_20_17	36	117195	117230
R_516	23	28733	28755	R_12_67	22	71039	71060	R_20_18	20	117243	117262
R_517	31	28758	28788	R_12_68	25	71104	71128	R_20_19	37	117273	117309
R_518	21	28857	28877	R_12_69	24	71195	71218	R_20_20	32	117329	117360
R_519	38	28922	28959	R_12_70	43	71467	71509	R_20_21	59	117432	117490
R_520	58	29019	29076	R_12_71	36	71519	71554	R_20_22	21	117509	117529
R_521	22	29115	29136	R_12_72	24	71560	71583	R_20_23	23	117557	117579
R_522	66	29198	29263	R_12_73	30	71606	71635	R_20_24	65	117580	117644
R_523	24	29297	29320	R_12_74	21	71637	71657	R_20_25	27	117646	117672

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_524	41	29335	29375	R_12 75	22	71672	71693	R_20 26	22	117708	117729
R_525	21	29386	29406	R_12 76	56	71744	71799	R_20 27	47	117730	117776
R_526	22	29433	29454	R_12 77	35	71827	71861	R_20 28	37	117778	117814
R_527	40	29473	29512	R_12 78	21	71863	71883	R_20 29	24	117881	117904
R_528	29	29531	29559	R_12 79	32	71913	71944	R_20 30	40	117904	117943
R_529	41	29586	29626	R_12 80	25	71946	71970	R_20 31	30	117945	117974
R_530	29	29635	29663	R_12 81	23	72022	72044	R_20 32	28	117993	118020
R_531	36	29665	29700	R_12 82	28	72092	72119	R_20 33	48	118064	118111
R_532	93	29750	29842	R_12 83	22	72095	72116	R_20 34	27	118113	118139
R_533	35	29853	29887	R_12 84	21	72121	72141	R_20 35	27	118141	118167
R_534	22	29907	29928	R_12 85	50	72147	72196	R_20 36	29	118169	118197
R_535	77	29964	30040	R_12 86	31	72204	72234	R_20 37	33	118210	118242
R_536	38	30093	30130	R_12 87	23	72230	72252	R_20 38	45	118386	118430
R_537	30	30169	30198	R_12 88	36	72236	72271	R_20 39	48	118446	118493
R_538	32	30210	30241	R_12 89	31	72285	72315	R_20 40	24	118532	118555
R_539	20	30243	30262	R_12 90	85	72314	72398	R_20 41	46	118634	118679
R_540	20	30303	30322	R_12 91	52	72400	72451	R_20 42	44	118774	118817
R_541	23	30324	30346	R_12 92	37	72443	72479	R_20 43	54	118841	118894
R_542	27	30362	30388	R_12 93	31	72482	72512	R_20 44	20	118912	118931
R_543	30	30390	30419	R_12 94	40	72566	72605	R_20 45	21	118999	119019
R_544	31	30462	30492	R_12 95	49	72607	72655	R_20 46	44	119283	119326
R_545	22	30534	30555	R_12 96	86	72657	72742	R_20 47	33	119353	119385
R_546	28	30557	30584	R_12 97	63	72752	72814	R_20 48	39	119392	119430
R_547	24	30596	30619	R_12 98	125	72816	72940	R_20 49	65	119441	119505
R_548	30	30626	30655	R_12 99	31	72955	72985	R_20 50	21	119566	119586
R_549	41	30675	30715	R_13 00	20	72987	73006	R_20 51	55	119604	119658
R_550	33	30726	30758	R_13 01	40	73008	73047	R_20 52	24	119660	119683
R_551	29	30787	30815	R_13 02	24	73049	73072	R_20 53	42	119685	119726
R_552	62	30819	30880	R_13 03	37	73118	73154	R_20 54	33	119736	119768
R_553	79	30972	31050	R_13 04	26	73163	73188	R_20 55	32	119770	119801

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_554	67	31053	31119	R_13_05	29	73212	73240	R_20_56	34	119804	119837
R_555	56	31121	31176	R_13_06	22	73279	73300	R_20_57	116	119885	120000
R_556	22	31178	31199	R_13_07	22	73315	73336	R_20_58	59	120128	120186
R_557	22	31207	31228	R_13_08	30	73338	73367	R_20_59	34	120317	120350
R_558	27	31227	31253	R_13_09	23	73387	73409	R_20_60	24	120530	120553
R_559	27	31255	31281	R_13_10	52	73411	73462	R_20_61	22	120571	120592
R_560	58	31310	31367	R_13_11	26	73498	73523	R_20_62	35	120611	120645
R_561	26	31383	31408	R_13_12	24	73525	73548	R_20_63	98	120663	120760
R_562	20	31419	31438	R_13_13	83	73562	73644	R_20_64	20	120924	120943
R_563	36	31440	31475	R_13_14	36	73646	73681	R_20_65	22	121093	121114
R_564	26	31503	31528	R_13_15	20	73703	73722	R_20_66	29	121117	121145
R_565	34	31530	31563	R_13_16	27	73725	73751	R_20_67	39	121244	121282
R_566	23	31585	31607	R_13_17	62	73776	73837	R_20_68	48	121365	121412
R_567	21	31611	31631	R_13_18	20	73845	73864	R_20_69	37	121414	121450
R_568	21	31614	31634	R_13_19	61	73894	73954	R_20_70	25	121649	121673
R_569	32	31675	31706	R_13_20	91	73955	74045	R_20_71	40	121687	121726
R_570	23	31708	31730	R_13_21	32	74079	74110	R_20_72	45	121728	121772
R_571	39	31737	31775	R_13_22	28	74115	74142	R_20_73	22	121795	121816
R_572	68	31763	31830	R_13_23	62	74144	74205	R_20_74	24	121939	121962
R_573	27	31763	31789	R_13_24	27	74214	74240	R_20_75	28	122038	122065
R_574	20	31803	31822	R_13_25	62	74244	74305	R_20_76	30	122218	122247
R_575	23	31832	31854	R_13_26	28	74320	74347	R_20_77	27	122273	122299
R_576	50	31952	32001	R_13_27	24	74350	74373	R_20_78	21	122301	122321
R_577	22	32110	32131	R_13_28	46	74386	74431	R_20_79	30	122318	122347
R_578	20	32114	32133	R_13_29	23	74433	74455	R_20_80	32	122356	122387
R_579	35	32143	32177	R_13_30	31	74463	74493	R_20_81	21	122428	122448
R_580	45	32179	32223	R_13_31	48	74497	74544	R_20_82	21	122432	122452
R_581	26	32208	32233	R_13_32	40	74546	74585	R_20_83	24	123020	123043
R_582	49	32225	32273	R_13_33	20	74604	74623	R_20_84	30	123038	123067
R_583	27	32289	32315	R_13_34	65	74648	74712	R_20_85	26	123052	123077

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_584	34	32317	32350	R_13 35	29	74725	74753	R_20 86	22	123258	123279
R_585	32	32352	32383	R_13 36	35	74764	74798	R_20 87	28	123291	123318
R_586	25	32390	32414	R_13 37	57	74805	74861	R_20 88	22	123402	123423
R_587	46	32416	32461	R_13 38	56	74863	74918	R_20 89	27	123644	123670
R_588	37	32497	32533	R_13 39	37	74936	74972	R_20 90	20	123819	123838
R_589	37	32691	32727	R_13 40	28	74974	75001	R_20 91	26	123841	123866
R_590	23	32753	32775	R_13 41	53	75003	75055	R_20 92	25	123965	123989
R_591	38	32794	32831	R_13 42	22	75019	75040	R_20 93	24	123997	124020
R_592	24	32835	32858	R_13 43	30	75097	75126	R_20 94	35	124034	124068
R_593	55	32890	32944	R_13 44	51	75126	75176	R_20 95	44	124075	124118
R_594	52	32959	33010	R_13 45	28	75362	75389	R_20 96	50	124156	124205
R_595	37	33025	33061	R_13 46	29	75417	75445	R_20 97	75	124247	124321
R_596	23	33063	33085	R_13 47	54	75482	75535	R_20 98	23	124353	124375
R_597	62	33087	33148	R_13 48	27	75552	75578	R_20 99	34	124377	124410
R_598	23	33160	33182	R_13 49	27	75580	75606	R_21 00	84	124472	124555
R_599	21	33190	33210	R_13 50	26	75593	75618	R_21 01	20	124557	124576
R_600	24	33222	33245	R_13 51	41	75815	75855	R_21 02	32	124648	124679
R_601	56	33258	33313	R_13 52	30	75919	75948	R_21 03	22	124688	124709
R_602	26	33317	33342	R_13 53	20	75944	75963	R_21 04	20	124700	124719
R_603	25	33344	33368	R_13 54	37	75964	76000	R_21 05	35	124712	124746
R_604	20	33379	33398	R_13 55	20	76123	76142	R_21 06	70	124748	124817
R_605	22	33395	33416	R_13 56	30	76156	76185	R_21 07	21	124824	124844
R_606	20	33395	33414	R_13 57	80	76199	76278	R_21 08	23	124859	124881
R_607	22	33400	33421	R_13 58	23	76296	76318	R_21 09	35	124883	124917
R_608	22	33457	33478	R_13 59	21	76327	76347	R_21 10	20	124919	124938
R_609	22	33512	33533	R_13 60	24	76341	76364	R_21 11	57	124940	124996
R_610	23	33532	33554	R_13 61	61	76366	76426	R_21 12	38	125015	125052
R_611	24	33532	33555	R_13 62	26	76467	76492	R_21 13	21	125032	125052
R_612	28	33535	33562	R_13 63	35	76520	76554	R_21 14	29	125064	125092
R_613	21	33547	33567	R_13 64	58	76571	76628	R_21 15	37	125107	125143

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_614	20	33548	33567	R_13 65	57	76697	76753	R_21 16	42	125198	125239
R_615	23	33582	33604	R_13 66	22	76755	76776	R_21 17	50	125241	125290
R_616	20	33588	33607	R_13 67	23	76822	76844	R_21 18	42	125292	125333
R_617	24	33618	33641	R_13 68	42	76863	76904	R_21 19	31	125346	125376
R_618	26	33675	33700	R_13 69	26	76906	76931	R_21 20	22	125378	125399
R_619	29	33726	33754	R_13 70	51	76944	76994	R_21 21	46	125401	125446
R_620	47	33775	33821	R_13 71	69	77037	77105	R_21 22	33	125700	125732
R_621	20	33835	33854	R_13 72	26	77153	77178	R_21 23	32	125734	125765
R_622	49	33856	33904	R_13 73	85	77180	77264	R_21 24	48	125803	125850
R_623	64	33948	34011	R_13 74	35	77271	77305	R_21 25	35	125912	125946
R_624	20	34025	34044	R_13 75	41	77307	77347	R_21 26	45	125948	125992
R_625	20	34072	34091	R_13 76	27	77433	77459	R_21 27	73	126012	126084
R_626	31	34139	34169	R_13 77	24	77462	77485	R_21 28	60	126087	126146
R_627	78	34179	34256	R_13 78	30	77508	77537	R_21 29	32	126341	126372
R_628	49	34258	34306	R_13 79	36	77561	77596	R_21 30	22	126374	126395
R_629	29	34379	34407	R_13 80	39	77615	77653	R_21 31	25	126388	126412
R_630	21	34417	34437	R_13 81	50	77655	77704	R_21 32	20	126473	126492
R_631	27	34449	34475	R_13 82	20	77719	77738	R_21 33	22	126484	126505
R_632	24	34495	34518	R_13 83	26	77762	77787	R_21 34	24	126660	126683
R_633	21	34516	34536	R_13 84	29	77807	77835	R_21 35	23	126691	126713
R_634	21	34562	34582	R_13 85	23	77837	77859	R_21 36	34	126715	126748
R_635	21	34572	34592	R_13 86	26	77861	77886	R_21 37	22	126822	126843
R_636	22	34576	34597	R_13 87	22	77910	77931	R_21 38	20	126885	126904
R_637	32	34612	34643	R_13 88	45	77933	77977	R_21 39	38	127054	127091
R_638	24	34646	34669	R_13 89	36	78017	78052	R_21 40	40	127111	127150
R_639	65	34681	34745	R_13 90	24	78074	78097	R_21 41	30	127201	127230
R_640	139	34765	34903	R_13 91	47	78136	78182	R_21 42	21	127232	127252
R_641	60	34943	35002	R_13 92	93	78184	78276	R_21 43	76	127258	127333
R_642	52	35012	35063	R_13 93	24	78282	78305	R_21 44	59	127359	127417
R_643	83	35065	35147	R_13 94	99	78319	78417	R_21 45	33	127419	127451

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_644	21	35160	35180	R_13_95	42	78420	78461	R_21_46	52	127567	127618
R_645	29	35188	35216	R_13_96	23	78478	78500	R_21_47	38	127620	127657
R_646	21	35218	35238	R_13_97	21	78647	78667	R_21_48	49	127656	127704
R_647	59	35269	35327	R_13_98	34	78736	78769	R_21_49	37	127706	127742
R_648	26	35330	35355	R_13_99	20	78891	78910	R_21_50	60	127761	127820
R_649	44	35372	35415	R_14_00	26	78926	78951	R_21_51	25	127953	127977
R_650	20	35417	35436	R_14_01	21	78953	78973	R_21_52	30	128097	128126
R_651	43	35442	35484	R_14_02	69	78997	79065	R_21_53	40	128187	128226
R_652	22	35482	35503	R_14_03	21	79067	79087	R_21_54	58	128237	128294
R_653	74	35505	35578	R_14_04	25	79091	79115	R_21_55	20	128323	128342
R_654	20	35599	35618	R_14_05	21	79122	79142	R_21_56	32	128408	128439
R_655	25	35620	35644	R_14_06	24	79160	79183	R_21_57	37	128425	128461
R_656	39	35654	35692	R_14_07	31	79187	79217	R_21_58	22	128463	128484
R_657	26	35697	35722	R_14_08	75	79219	79293	R_21_59	56	128500	128555
R_658	30	35724	35753	R_14_09	27	79308	79334	R_21_60	21	128565	128585
R_659	23	35756	35778	R_14_10	71	79366	79436	R_21_61	29	128586	128614
R_660	22	35777	35798	R_14_11	34	79469	79502	R_21_62	53	128631	128683
R_661	40	35838	35877	R_14_12	41	79534	79574	R_21_63	59	128685	128743
R_662	24	35879	35902	R_14_13	28	79576	79603	R_21_64	99	128738	128836
R_663	20	35887	35906	R_14_14	23	79605	79627	R_21_65	23	128850	128872
R_664	21	35894	35914	R_14_15	24	79712	79735	R_21_66	20	128896	128915
R_665	62	35928	35989	R_14_16	35	79738	79772	R_21_67	63	128922	128984
R_666	27	36002	36028	R_14_17	37	79793	79829	R_21_68	25	129031	129055
R_667	20	36025	36044	R_14_18	38	79847	79884	R_21_69	28	129071	129098
R_668	21	36030	36050	R_14_19	48	79924	79971	R_21_70	69	129104	129172
R_669	64	36099	36162	R_14_20	31	80108	80138	R_21_71	27	129196	129222
R_670	30	36171	36200	R_14_21	34	80140	80173	R_21_72	38	129235	129272
R_671	39	36202	36240	R_14_22	77	80211	80287	R_21_73	30	129330	129359
R_672	56	36242	36297	R_14_23	55	80307	80361	R_21_74	33	129345	129377
R_673	47	36307	36353	R_14_24	26	80366	80391	R_21_75	40	129401	129440

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_674	34	36404	36437	R_14 25	38	80419	80456	R_21 76	24	129427	1294 50
R_675	22	36439	36460	R_14 26	20	80472	80491	R_21 77	22	129443	1294 64
R_676	20	36493	36512	R_14 27	21	80505	80525	R_21 78	34	129488	1295 21
R_677	24	36514	36537	R_14 28	40	80527	80566	R_21 79	79	129540	1296 18
R_678	20	36568	36587	R_14 29	37	80571	80607	R_21 80	69	129617	1296 85
R_679	32	36589	36620	R_14 30	40	80618	80657	R_21 81	29	129705	1297 33
R_680	25	36622	36646	R_14 31	29	80671	80699	R_21 82	65	129735	1297 99
R_681	22	36654	36675	R_14 32	36	80732	80767	R_21 83	48	129801	1298 48
R_682	26	36678	36703	R_14 33	39	80791	80829	R_21 84	37	129884	1299 20
R_683	28	36728	36755	R_14 34	37	80830	80866	R_21 85	42	129918	1299 59
R_684	41	36790	36830	R_14 35	53	80868	80920	R_21 86	38	129988	1300 25
R_685	60	36862	36921	R_14 36	30	80996	81025	R_21 87	26	130084	1301 09
R_686	37	36940	36976	R_14 37	25	81027	81051	R_21 88	24	130125	1301 48
R_687	55	37002	37056	R_14 38	55	81053	81107	R_21 89	36	130150	1301 85
R_688	44	37124	37167	R_14 39	68	81109	81176	R_21 90	21	130247	1302 67
R_689	29	37169	37197	R_14 40	24	81225	81248	R_21 91	80	130269	1303 48
R_690	25	37232	37256	R_14 41	68	81264	81331	R_21 92	30	130384	1304 13
R_691	21	37258	37278	R_14 42	23	81344	81366	R_21 93	21	130424	1304 44
R_692	75	37280	37354	R_14 43	64	81377	81440	R_21 94	37	130564	1306 00
R_693	93	37399	37491	R_14 44	26	81481	81506	R_21 95	21	130663	1306 83
R_694	22	37465	37486	R_14 45	31	81571	81601	R_21 96	43	130690	1307 32
R_695	21	37491	37511	R_14 46	44	81608	81651	R_21 97	61	130735	1307 95
R_696	20	37543	37562	R_14 47	47	81694	81740	R_21 98	109	130797	1309 05
R_697	23	37582	37604	R_14 48	27	81757	81783	R_21 99	51	130941	1309 91
R_698	31	37608	37638	R_14 49	36	81780	81815	R_22 00	23	131025	1310 47
R_699	21	37660	37680	R_14 50	25	81817	81841	R_22 01	21	131064	1310 84
R_700	21	37720	37740	R_14 51	46	81866	81911	R_22 02	35	131119	1311 53
R_701	35	37778	37812	R_14 52	23	81916	81938	R_22 03	62	131155	1312 16
R_702	72	37825	37896	R_14 53	27	81946	81972	R_22 04	39	131269	1313 07
R_703	35	37926	37960	R_14 54	20	82028	82047	R_22 05	22	131309	1313 30

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_704	42	37962	38003	R_14 55	55	82049	82103	R_22 06	32	131350	131381
R_705	20	38119	38138	R_14 56	71	82122	82192	R_22 07	52	131432	131483
R_706	28	38162	38189	R_14 57	32	82216	82247	R_22 08	43	131501	131543
R_707	23	38215	38237	R_14 58	47	82278	82324	R_22 09	20	131565	131584
R_708	22	38249	38270	R_14 59	25	82498	82522	R_22 10	90	131606	131695
R_709	79	38284	38362	R_14 60	27	82549	82575	R_22 11	79	131697	131775
R_710	30	38419	38448	R_14 61	48	82606	82653	R_22 12	69	131758	131826
R_711	25	38476	38500	R_14 62	26	82655	82680	R_22 13	20	131877	131896
R_712	21	38486	38506	R_14 63	27	82699	82725	R_22 14	21	131898	131918
R_713	22	38520	38541	R_14 64	67	82735	82801	R_22 15	23	131951	131973
R_714	47	38548	38594	R_14 65	56	82833	82888	R_22 16	37	131975	132011
R_715	22	38603	38624	R_14 66	29	82898	82926	R_22 17	25	132017	132041
R_716	27	38623	38649	R_14 67	26	82928	82953	R_22 18	29	132061	132089
R_717	22	38709	38730	R_14 68	45	82990	83034	R_22 19	22	132091	132112
R_718	21	38734	38754	R_14 69	73	83083	83155	R_22 20	32	132138	132169
R_719	46	38777	38822	R_14 70	39	83180	83218	R_22 21	36	132182	132217
R_720	33	38853	38885	R_14 71	70	83255	83324	R_22 22	26	132253	132278
R_721	27	38897	38923	R_14 72	35	83346	83380	R_22 23	48	132280	132327
R_722	23	38982	39004	R_14 73	23	83409	83431	R_22 24	33	132403	132435
R_723	26	39007	39032	R_14 74	111	83433	83543	R_22 25	58	132437	132494
R_724	23	39007	39029	R_14 75	39	83553	83591	R_22 26	33	132496	132528
R_725	20	39016	39035	R_14 76	54	83628	83681	R_22 27	60	132541	132600
R_726	21	39026	39046	R_14 77	36	83710	83745	R_22 28	22	132619	132640
R_727	30	39048	39077	R_14 78	32	83776	83807	R_22 29	23	132656	132678
R_728	31	39140	39170	R_14 79	23	83809	83831	R_22 30	21	132758	132778
R_729	24	39161	39184	R_14 80	53	83854	83906	R_22 31	39	132780	132818
R_730	36	39188	39223	R_14 81	20	83960	83979	R_22 32	47	132827	132873
R_731	28	39235	39262	R_14 82	43	83995	84037	R_22 33	27	132893	132919
R_732	39	39264	39302	R_14 83	73	84051	84123	R_22 34	65	132917	132981
R_733	52	39328	39379	R_14 84	40	84142	84181	R_22 35	20	132983	133002

Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1		Reg.	Longitud (nt)	Posición en SEQ ID NO: 1	
		inicio	Fin			inicio	Fin			inicio	Fin
R_734	59	39391	39449	R_14_85	52	84217	84268	R_22_36	67	133014	133080
R_735	30	39463	39492	R_14_86	28	84270	84297	R_22_37	46	133082	133127
R_736	20	39492	39511	R_14_87	20	84354	84373	R_22_38	39	133129	133167
R_737	20	39519	39538	R_14_88	21	84440	84460	R_22_39	31	133169	133199
R_738	37	39557	39593	R_14_89	31	84488	84518	R_22_40	34	133201	133234
R_739	34	39595	39628	R_14_90	22	84653	84674	R_22_41	27	133251	133277
R_740	34	39639	39672	R_14_91	29	84727	84755	R_22_42	20	133282	133301
R_741	26	39682	39707	R_14_92	38	84851	84888	R_22_43	37	133343	133379
R_742	20	39709	39728	R_14_93	21	84887	84907	R_22_44	30	133404	133433
R_743	23	39746	39768	R_14_94	58	84932	84989	R_22_45	77	133435	133511
R_744	23	39753	39775	R_14_95	35	84991	85025	R_22_46	48	133528	133575
R_745	20	39777	39796	R_14_96	24	85109	85132	R_22_47	22	133676	133697
R_746	20	39798	39817	R_14_97	60	85135	85194	R_22_48	54	133710	133763
R_747	41	39833	39873	R_14_98	27	85206	85232	R_22_49	20	133765	133784
R_748	20	39876	39895	R_14_99	26	85239	85264	R_22_50	29	133786	133814
R_749	36	39907	39942	R_15_00	32	85327	85358	R_22_51	40	133816	133855
R_750	47	39990	40036	R_15_01	24	85390	85413	R_22_52	42	133857	133898
R_751	36	40074	40109	R_15_02	24	85520	85543	R_22_53	63	133900	133962
								R_22_54	40	133964	134003

En algunas formas de realización, la secuencia diana es una secuencia seleccionada de un intrón de ARNm de MAPT humana, tal como un intrón 1 o 2 de ARNm humano de Tau (ver la Tabla 1 anterior).

El oligonucleótido de la invención comprende una secuencia de nucleótidos contiguos que es complementaria de o se hibrida con el ácido nucleico diana, tal como una secuencia diana descrita en la presente.

La secuencia diana de la cual el oligonucleótido es complementario o con la que este se hibrida comprende, en general, una secuencia de nucleobases contiguas de al menos 10 nucleótidos. La secuencia de nucleótidos contiguos es de 10 a 100 nucleótidos, tal como 12 a 60, tal como 13 a 50, tal como 14 a 30, tal como 15 a 25, tal como 16 a 20 nucleótidos contiguos.

En una forma de realización de la invención, la secuencia diana es SEQ ID NO: 3, correspondiente a la región A. En algunas formas de realización de la invención, la secuencia diana

se selecciona de la posición 12051 – 12111 de SEQ ID NO: 1, tal como posición 12051 – 12079, posición 12085-12111 o posición 12060 – 12078 de SEQ ID NO: 1.

En otra forma de realización de la invención, la secuencia diana es SEQ ID NO: 4, correspondiente a la región B. En algunas formas de realización de la invención, la secuencia diana se selecciona de la posición 39562-39593 de SEQ ID NO: 1, tal como posición 39573-39592 de SEQ ID NO: 1.

En otra forma de realización de la invención, la secuencia diana es SEQ ID NO: 5, correspondiente a la región C. En algunas formas de realización de la invención, la secuencia diana se selecciona de la posición 72837-72940 de SEQ ID NO: 1, tal como posición 72861-72891 o posición 72862-72890 de SEQ ID NO: 1.

Célula diana

Como se usa en la presente, la expresión “célula diana” se refiere a una célula que expresa el ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, la célula diana puede ser *in vivo* o *in vitro*. En algunas formas de realización, la célula diana es una célula de mamífero, tal como una célula de roedor, tal como una célula de ratón o una célula de rata, o una célula de primate, tal como una célula de mono o una célula humana.

En formas de realización preferida, la célula diana expresa ARNm de Tau, tal como el pre-ARNm de Tau o ARNm maduro de Tau. En general, se descarta que la cola de poli A de ARNm de Tau actúe sobre oligonucleótidos antisentido.

Variante natural

La expresión “variante natural” se refiere a variantes del gen MAPT o transcritos que se originan de los mismos locus genéticos que el ácido nucleico diana, pero pueden diferir, por ejemplo, según la degeneración del código genético que produce una multiplicidad de codones que codifican el mismo aminoácido, o debido al empalme alternativo de pre-ARNm, o la presencia de polimorfismos, tales como polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y variantes alélicas. En función de la presencia de la secuencia complementaria adecuada del oligonucleótido, el oligonucleótido de la invención puede, en consecuencia, actuar sobre el ácido nucleico diana y variantes naturales de este.

En algunas formas de realización, las variantes naturales tienen al menos 95 %, tal como al menos 98 % o al menos 99 % de homología con un ácido nucleico diana de MAPT de mamífero, tal como un ácido nucleico diana seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1 y 2. En algunas formas de realización, las variantes naturales tienen al menos 99 % de homología con el ácido nucleico diana de MAPT humana de SEQ ID NO: 1.

Modulación de la expresión

Como se usa en la presente, “modulación de la expresión” es una expresión general para la capacidad de un oligonucleótido de alterar la cantidad de Tau en comparación con la cantidad de

Tau antes de la administración del oligonucleótido. De manera alternativa, la modulación de la expresión se puede determinar en referencia a un experimento de control. Por lo general se entiende que el control es un individuo o una célula diana tratados con una composición salina o un individuo o una célula diana tratados con un oligonucleótido no diana (simulado).

Un tipo de modulación consiste en la capacidad de un oligonucleótido para inhibir, regular de manera descendente, reducir, inhibir, eliminar, detener, bloquear, evitar, reducir, disminuir o terminar la expresión de Tau, por ejemplo, mediante degradación de ARNm o bloqueo de la transcripción. Otro tipo de modulación es la capacidad de un oligonucleótido para restablecer, aumentar o mejorar la expresión de Tau, por ejemplo, mediante reparación de sitios de empalme o prevención del empalme o eliminación o bloqueo de mecanismos inhibidores, tales como represión de microARN.

Nucleósidos modificados de alta afinidad

Un nucleósido modificado de alta afinidad es un nucleótido modificado que, cuando se incorpora en el oligonucleótido, mejora la afinidad del oligonucleótido a su diana de complementariedad, por ejemplo, según se mide de acuerdo a la temperatura de fusión (T_m). Un nucleósido modificado de alta afinidad de la presente invención produce, preferentemente, un aumento de la temperatura de fusión de +0,5 a +12 °C, con mayor preferencia, de +1,5 a +10 °C y, con máxima preferencia, de +3 a +8 °C por nucleósido modificado. Muchos nucleósidos modificados de alta afinidad se conocen en el estado de la técnica e incluyen, por ejemplo, muchos nucleósidos 2' sustituidos al igual que ácidos nucleicos bloqueados (LNA) (ver, por ejemplo, Freier & Altmann; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443 y Uhlmann; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213).

Modificaciones de azúcar

El oligómero de la invención puede comprender uno o más nucleósidos que tengan una porción azúcar modificada, es decir, una modificación de la porción azúcar en comparación con la porción azúcar de ribosa que se encuentra en ADN y ARN.

Se han elaborado muchos nucleósidos con modificación de la porción azúcar de ribosa, principalmente con el fin de mejorar determinadas propiedades de oligonucleótidos, tales como la afinidad y/o la resistencia a nucleasa.

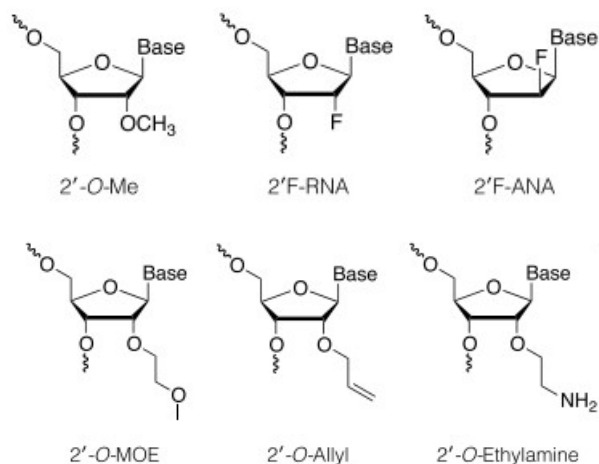
Tales modificaciones incluyen aquellas en donde la estructura del anillo de ribosa se modifica, por ejemplo, mediante reemplazo con un anillo de hexosa (HNA), o un anillo bicíclico, que generalmente tienen un puente birradical entre los carbonos C2 y C4 en el anillo de ribosa (LNA), o un anillo de ribosa no ligado que en general no tiene un enlace entre los carbonos C2 y C3 (por ejemplo, UNA). Otros nucleósidos modificados en azúcar incluyen, por ejemplo, ácidos nucleicos de biciclohexosa (WO2011/017521) o ácidos nucleicos tricíclicos (WO2013/154798). Los nucleósidos modificados también incluyen nucleósidos en donde la porción azúcar se reemplaza por una porción no azúcar, por ejemplo, en el caso de ácidos nucleicos peptídicos (PNA) o ácidos morfolino nucleicos.

Las modificaciones de azúcar también incluyen modificaciones que se realizan cambiando los grupos sustituyentes en el anillo de ribosa por grupos diferentes de hidrógeno, o el grupo 2'-OH que se encuentra naturalmente en nucleósidos de ADN y ARN. Los sustituyentes se pueden introducir, por ejemplo, en las posiciones 2', 3', 4' o 5'.

Nucleósidos modificados en azúcar 2'

Un nucleósido modificado en azúcar 2' es un nucleósido que tiene un sustituyente diferente de H o -OH en la posición 2' (nucleósido 2' sustituido) o comprende un birradical ligado 2' capaz de formar un puente entre el carbono 2' y un segundo carbono en el anillo de ribosa, tal como nucleósidos de LNA (en puente birradical 2' – 4').

De hecho, se hicieron grandes esfuerzos para desarrollar nucleósidos sustituidos en azúcar 2' y numerosos nucleósidos sustituidos 2' demostraron tener propiedades beneficiosas cuando se incorporaron en los oligonucleótidos. Por ejemplo, el azúcar modificado 2' puede proporcionar afinidad de fijación mejorada y/o mayor resistencia de nucleasa al oligonucleótido. Los ejemplos de nucleósidos modificados 2' sustituidos son nucleósidos de 2'-O-alkil-ARN, 2'-O-metil-ARN, 2'-alcoxi-ARN, 2'-O-metoxietil-ARN (MOE), 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ARN y 2'-F-ANA. Para más ejemplos, ver, por ejemplo, Freier & Altmann; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443 y Uhlmann; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213, y Deleavey y Damha, Chemistry and Biology 2012, 19, 937. A continuación se muestran ilustraciones de algunos nucleósidos modificados 2' sustituidos.



Con respecto a la presente invención, los nucleósidos modificados en azúcar 2' sustituidos no incluyen nucleósidos en puente 2' tipo LNA.

Nucleósidos de ácido nucleico bloqueado (nucleósido de LNA)

Un “nucleósido de LNA” es un nucleósido modificado en azúcar 2' que comprende un birradical que une C2' y C4' del anillo de azúcar de ribosa de dicho nucleósido (también denominado “puente 2'-4'”), que restringe o bloquea la conformación del anillo de ribosa. Estos nucleósidos

también se denominan ácido nucleico en puente o ácido nucleico bicíclico (BNA) en la literatura. El bloqueo de la conformación de la ribosa está asociado a una afinidad mejorada de hibridación (estabilización de dúplex) cuando LNA se incorpora en un oligonucleótido para una molécula de ADN o ARN complementario. Esto se puede definir de manera habitual midiendo la temperatura de fusión del dúplex oligonucleótido/complemento.

Se divulgan nucleósidos de LNA no limitativos de ejemplo en WO 99/014226, WO 00/66604, WO 98/039352, WO 2004/046160, WO 00/047599, WO 2007/134181, WO 2010/077578, WO 2010/036698, WO 2007/090071, WO 2009/006478, WO 2011/156202, WO 2008/154401, WO 2009/067647, WO 2008/150729, Morita *et al.*, Bioorganic & Med.Chem. Lett. 12, 73-76, Seth *et al.* J. Org. Chem. 2010, vol. 75(5) pp. 1569-81, Mitsuoka *et al.*, Nucleic Acids Research 2009, 37(4), 1225-1238, y Wan y Seth, J. Medical Chemistry 2016, 59, 9645-9667.

El puente 2'-4' comprende 2 a 4 átomos en puente y es, en particular, de la Fórmula -X-Y-, en donde

X es oxígeno, azufre, $-CR^aR^b-$, $-C(R^a)=C(R^b)-$, $-C(=CR^aR^b)-$, $-C(R^a)=N-$, $-Si(R^a)_2-$, $-SO_2-$, $-NR^a-$, $-O-NR^a-$, $-NR^a-O-$, $-C(=J)-$, Se, $-O-NR^a-$, $-NR^a-CR^aR^b-$, $-N(R^a)-O-$ o $-O-CR^aR^b-$;

Y es oxígeno, azufre, $-(CR^aR^b)_n-$, $-CR^aR^b-O-CR^aR^b-$, $-C(R^a)=C(R^b)-$, $-C(R^a)=N-$, $-Si(R^a)_2-$, $-SO_2-$, $-NR^a-$, $-C(=J)-$, Se, $-O-NR^a-$, $-NR^a-CR^aR^b-$, $-N(R^a)-O-$ o $-O-CR^aR^b-$;

siempre que -X-Y- no sea $-O-O-$, $Si(R^a)_2-Si(R^a)_2-$, $-SO_2-SO_2-$, $-C(R^a)=C(R^b)-C(R^a)=C(R^b)-$, $-C(R^a)=N-C(R^a)=N-$, $-C(R^a)=N-C(R^a)=C(R^b)-$, $-C(R^a)=C(R^b)-C(R^a)=N-$ o $-Se-Se-$;

J es oxígeno, azufre, $=CH_2$ o $=N(R^a)$;

R^a y R^b se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, ciano, tiohidroxilo, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, alcóxialquilo, alqueniloxi, carboxilo, alcóxicarbonilo, alquilcarbonilo, formilo, arilo, heterociclilo, amino, alquilamino, carbamoilo, alquilaminocarbonilo, aminoalquilaminocarbonilo, alquilaminoalquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, carbamido, alcanoi oxo, sulfonilo, alquilsulfoniloxi, nitro, azido, tiohidroxilsulfuroalquilsulfanilo, ariloxicarbonilo, ariloxi, arilcarbonilo, heteroarilo, heteroariloxicarbonilo, heteroariloxi, heteroarilcarbonilo, $-OC(=X^a)R^c$, $-OC(=X^a)NR^cR^d$ y $-NR^cC(=X^a)NR^cR^d$;

o dos R^a y R^b geminales juntos forman metileno opcionalmente sustituido;

o dos R^a y R^b geminales, junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman cicloalquilo o halocicloalquilo, con un solo átomo de carbono de -X-Y-;

en donde alquilo sustituido, alquenilo sustituido, alquinilo sustituido, alcoxi sustituido y metileno sustituido son alquilo, alquenilo, alquinilo y metileno sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de halógeno, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, alcóxialquilo, alqueniloxi, carboxilo, alcóxicarbonilo, alquilcarbonilo, formilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo;

X^a es oxígeno, azufre o $-NR^c$;

R^c , R^d y R^e se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo; y

n es 1, 2 o 3.

En otra forma de realización particular de la invención, X es oxígeno, azufre, $-NR^a$ -, $-CR^aR^b$ - o $-C(=CR^aR^b)$ -, en particular, oxígeno, azufre, $-NH$ -, $-CH_2$ - o $-C(=CH_2)$ -, más en particular, oxígeno.

En otra forma de realización particular de la invención, Y es $-CR^aR^b$ -, $-CR^aR^b-CR^aR^b$ - o $-CR^aR^b-CR^aR^b-CR^aR^b$ -, en particular, $-CH_2-CHCH_3$ -, $-CHCH_3-CH_2$ -, $-CH_2-CH_2$ - o $-CH_2-CH_2-CH_2$ -.

En una forma de realización particular de la invención, $-X-Y$ - es $-O-(CR^aR^b)_n$ -, $-S-CR^aR^b$ -, $-N(R^a)CR^aR^b$ -, $-CR^aR^b-CR^aR^b$ -, $-O-CR^aR^b-O-CR^aR^b$ -, $-CR^aR^b-O-CR^aR^b$ -, $-C(=CR^aR^b)-CR^aR^b$ -, $-N(R^a)CR^aR^b$ -, $-O-N(R^a)-CR^aR^b$ - o $-N(R^a)-O-CR^aR^b$ -.

En una forma de realización particular de la invención, R^a y R^b se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo y alcoxialquilo, en particular hidrógeno, halógeno, alquilo y alcoxialquilo.

En otra forma de realización de la invención, R^a y R^b se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, fluoro, hidroxilo, metilo y $-CH_2-O-CH_3$, en particular, hidrógeno, fluoro, metilo y $-CH_2-O-CH_3$.

De manera ventajosa, uno de R^a y R^b de $-X-Y$ - es como se definió anteriormente, y los otros son todos hidrógeno al mismo tiempo.

En otra forma de realización particular de la invención, R^a es hidrógeno o alquilo, en particular, hidrógeno o metilo.

En otra forma de realización particular de la invención, R^b es hidrógeno o alquilo, en particular, hidrógeno o metilo.

En una forma de realización particular de la invención, uno o ambos de R^a y R^b son hidrógeno.

En una forma de realización particular de la invención, solo uno de R^a y R^b es hidrógeno.

En una forma de realización particular de la invención, uno de R^a y R^b es metilo, y el otro es hidrógeno.

En una forma de realización particular de la invención, R^a y R^b son ambos metilo al mismo tiempo.

En una forma de realización particular de la invención, $-X-Y$ - es $-O-CH_2$ -, $-S-CH_2$ -, $-S-CH(CH_3)$ -, $-NH-CH_2$ -, $-O-CH_2CH_2$ -, $-O-CH(CH_2-O-CH_3)$ -, $-O-CH(CH_2CH_3)$ -, $-O-CH(CH_3)$ -, $-O-CH_2-O-CH_2$ -, $-O-CH_2-O-CH_2$ -, $-CH_2-O-CH_2$ -, $-C(=CH_2)CH_2$ -, $-C(=CH_2)CH(CH_3)$ -, $-N(OCH_3)CH_2$ - o $-N(CH_3)CH_2$;

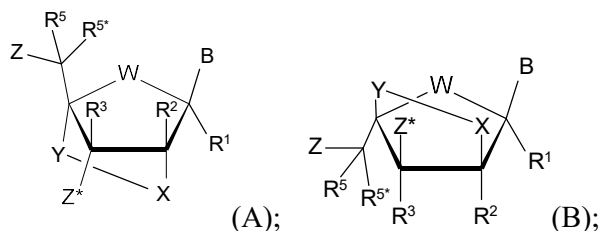
En una forma de realización particular de la invención, $-X-Y$ - es $-O-CR^aR^b$ -, en donde R^a y R^b se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo y alcoxialquilo, en particular, hidrógeno, metilo y $-CH_2-O-CH_3$.

En una forma de realización particular, $-X-Y$ - es $-O-CH_2$ - o $-O-CH(CH_3)$ -, en particular, $-O$ -

CH₂-.

El puente 2'-4' se puede ubicar por debajo del plano del anillo de ribosa (configuración beta-D) o sobre el plano del anillo (configuración alfa-L), como se ilustra en la Fórmula (A) y la Fórmula (B), respectivamente.

El nucleósido de LNA de acuerdo con la invención es, en particular, de la Fórmula (A) o (B)



en donde

W es oxígeno, azufre, -N(R^a)- o -CR^aR^b-, en particular, oxígeno;

B es una nucleobase o una nucleobase modificada;

Z es un enlace internucleósido a un nucleósido adyacente o un grupo terminal 5';

Z* es un enlace internucleósido a un nucleósido adyacente o un grupo terminal 3';

R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, alquilo, haloalquilo, alquenilo, alquinilo, hidroxilo, alcoxi, alcoxialquilo, azido, alqueniloxi, carboxilo, alcocarbonilo, alquilcarbonilo, formilo y arilo; y

X, Y, R^a y R^b son como se definieron anteriormente.

En una forma de realización particular, en la definición de -X-Y-, R^a es hidrógeno o alquilo, en particular, hidrógeno o metilo. En otra forma de realización particular, en la definición de -X-Y-, R^b es hidrógeno o alquilo, en particular, hidrógeno o metilo. En otra forma de realización particular, en la definición de -X-Y-, uno o ambos de R^a y R^b son hidrógeno. En una forma de realización particular, en la definición de -X-Y-, solo uno de R^a y R^b es hidrógeno. En una forma de realización particular, en la definición de -X-Y-, uno de R^a y R^b es metilo, y el otro es hidrógeno. En una forma de realización particular, en la definición de -X-Y-, R^a y R^b son ambos metilo al mismo tiempo.

En otra forma de realización particular, en la definición de X, R^a es hidrógeno o alquilo, en particular, hidrógeno o metilo. En otra forma de realización particular, en la definición de X, R^b es hidrógeno o alquilo, en particular, hidrógeno o metilo. En una forma de realización particular, en la definición de X, uno o ambos de R^a y R^b son hidrógeno. En una forma de realización particular, en la definición de X, solo uno de R^a y R^b es hidrógeno. En una forma de realización particular, en la definición de X, uno de R^a y R^b es metilo, y el otro es hidrógeno. En una forma de realización particular, en la definición de X, R^a y R^b son ambos metilo al mismo tiempo.

En otra forma de realización particular, en la definición de Y, R^a es hidrógeno o alquilo, en particular, hidrógeno o metilo. En otra forma de realización particular, en la definición de Y, R^b es hidrógeno o alquilo, en particular, hidrógeno o metilo. En una forma de realización particular, en la

definición de Y, uno o ambos de R^a y R^b son hidrógeno. En una forma de realización particular, en la definición de Y, solo uno de R^a y R^b es hidrógeno. En una forma de realización particular, en la definición de Y, uno de R^a y R^b es metilo, y el otro es hidrógeno. En una forma de realización particular, en la definición de Y, R^a y R^b son ambos metilo al mismo tiempo.

En una forma de realización particular de la invención, R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo, en particular, hidrógeno y metilo.

En otra forma de realización particularmente ventajosa de la invención, R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo.

En otra forma de realización particular de la invención, R¹, R², R³ son todos hidrógeno al mismo tiempo, uno de R⁵ y R^{5*} es hidrógeno, y el otro es como se definió anteriormente, en particular, alquilo, más en particular, metilo.

En una forma de realización particular de la invención, R⁵ y R^{5*} se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, alquilo, alcoxialquilo y azido, en particular, de hidrógeno, fluoro, metilo, metoxietilo y azido. En formas de realización particularmente ventajosas de la invención, uno de R⁵ y R^{5*} es hidrógeno, y el otro es alquilo, en particular, metilo, halógeno, en particular, fluoro, alcoxialquilo, en particular, metoxietilo o azido; o R⁵ y R^{5*} son ambos hidrógeno o halógeno al mismo tiempo, en particular, hidrógeno o fluoro al mismo tiempo. En tales formas de realización particulares, W puede ser, de manera ventajosa, oxígeno, y -X-Y-, de manera ventajosa, -O-CH₂-.

En una forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CH₂-, W es oxígeno, y R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. Tales nucleósidos de LNA se divulgan en WO 99/014226, WO 00/66604, WO 98/039352 y WO 2004/046160, que se incorporan por referencia en su totalidad, e incluyen los que se conocen en el estado de la técnica como nucleósidos de beta-D-oxi LNA y de alfa-L-oxi LNA.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -S-CH₂-, W es oxígeno, y R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. Tales nucleósidos de tio LNA se divulgan en WO 99/014226 y WO 2004/046160 que se incorporan en la presente por referencia.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -NH-CH₂-, W es oxígeno, y R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. Tales nucleósidos de amino LNA se divulgan en WO 99/014226 y WO 2004/046160 que se incorporan en la presente por referencia.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CH₂CH₂- o -OCH₂CH₂CH₂-, W es oxígeno, y R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. Tales nucleósidos de LNA se divulgan en WO 00/047599 y Morita *et al.*, Bioorganic & Med.Chem. Lett. 12, 73-76, que se incorporan en la presente por referencia, e incluyen lo que se conoce comúnmente en el estado de la técnica como ácidos nucleicos en puente de 2'-O-4'C-etileno (ENA).

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CH₂-, W es oxígeno, R¹,

R^2 , R^3 son todos hidrógeno al mismo tiempo, uno de R^5 y R^{5*} es hidrógeno, y el otro no es hidrógeno, tal como alquilo, por ejemplo, metilo. Tales nucleósidos de LNA 5'-sustituidos se divulgan en WO 2007/134181 que se incorpora en la presente por referencia.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CR^aR^b-, en donde uno o ambos de R^a y R^b no son hidrógeno, en particular, alquilo, tal como metilo, W es oxígeno, R^1 , R^2 , R^3 son todos hidrógeno al mismo tiempo, uno de R^5 y R^{5*} es hidrógeno, y el otro no es hidrógeno, en particular, alquilo, por ejemplo, metilo. Tales nucleósidos de LNA modificados en bis se divulgan en WO 2010/077578 que se incorpora en la presente por referencia.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CHR^a-, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. Tales nucleósidos de LNA 6'-sustituidos se divulgan en WO 2010/036698 y WO 2007/090071 que se incorporan en la presente por referencia. En tales nucleósidos de LNA 6'-sustituidos, R^a es, en particular, C₁-C₆ alquilo, tal como metilo.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CH(CH₂-O-CH₃)- ("ácido nucleico bicíclico de 2' O-metoxietilo", Seth *et al.* J. Org. Chem. 2010, vol. 75(5) pp. 1569-81).

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CH(CH₂CH₃)- ("ácido nucleico bicíclico de 2' O-etilo", Seth *et al.*, J. Org. Chem. 2010, vol. 75(5) pp. 1569-81).

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CH(CH₂-O-CH₃)-, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. Tales nucleósidos de LNA también se conocen en el estado de la técnica como MOE cíclicos (cMOE) y se divulgan en WO 2007/090071.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CH(CH₃)-.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CH₂-O-CH₂- (Seth *et al.*, J. Org. Chem 2010 *op. cit.*)

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CH(CH₃)-, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. Tales nucleósidos de LNA 6'-metilo también se conocen en el estado de la técnica como nucleósidos cET, y pueden ser diastereómeros (S)-cET o (R)-cET, como se divulga en WO 2007/090071 (beta-D) y WO 2010/036698 (alfa-L) que se incorporan en la presente por referencia.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -O-CR^aR^b-, en donde ni R^a ni R^b es hidrógeno, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. En una forma de realización particular, R^a y R^b son ambos alquilo al mismo tiempo, en particular, ambos son metilo al mismo tiempo. Tales nucleósidos de LNA 6'-di-sustituidos se divulgan en WO 2009/006478 que se incorpora en la presente por referencia.

En otra forma de realización particular de la invención, -X-Y- es -S-CHR^a-, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. Tales nucleósidos de LNA 6'-sustituidos se divulgan en WO 2011/156202 que se incorpora en la presente por referencia. En una forma de

realización particular de dicho LNA tio 6'-sustituido, R^a es alquilo, en particular, metilo.

En una forma de realización particular de la invención, $-X-Y-$ es $-C(=CH_2)C(R^aR^b)-$, $-C(=CHF)C(R^aR^b)-$ o $-C(=CF_2)C(R^aR^b)-$, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. R^a y R^b se seleccionan independientemente, de manera ventajosa, de hidrógeno, halógeno, alquilo y alcoxilalquilo, en particular, hidrógeno, metilo, fluoro y metoximetilo. R^a y R^b son ambos, en particular, hidrógeno o metilo al mismo tiempo, o uno de R^a y R^b es hidrógeno y el otro es metilo. Tales nucleósidos de vinil carbo LNA se divulgan en WO 2008/154401 y WO 2009/067647 que se incorporan en la presente por referencia.

En una forma de realización particular de la invención, $-X-Y-$ es $-N(OR^a)-CH_2-$, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. En una forma de realización particular, R^a es alquilo, tal como metilo. Tales nucleósidos de LNA también se conocen como LNA N sustituidos y se divulgan en WO 2008/150729 que se incorpora en la presente por referencia.

En una forma de realización particular de la invención, $-X-Y-$ es $-O-N(R^a)-$, $-N(R^a)-O-$, $-NR^a-CR^aR^b-CR^aR^b-$ o $-NR^a-CR^aR^b-$, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. R^a y R^b se seleccionan independientemente, de manera ventajosa, de hidrógeno, halógeno, alquilo y alcoxilalquilo, en particular, hidrógeno, metilo, fluoro y metoximetilo. En una forma de realización particular, R^a es alquilo, tal como metilo, R^b es hidrógeno o metilo, en particular, hidrógeno. (Seth *et al.*, J. Org. Chem 2010 *op. cit.*).

En una forma de realización particular de la invención, $-X-Y-$ es $-O-N(CH_3)-$ (Seth *et al.*, J. Org. Chem 2010 *op. cit.*).

En una forma de realización particular de la invención, R^5 y R^{5*} son ambos hidrógeno al mismo tiempo. En otra forma de realización particular de la invención, uno de R^5 y R^{5*} es hidrógeno, y el otro es alquilo, tal como metilo. En tales formas de realización, R^1 , R^2 y R^3 pueden ser, en particular, hidrógeno, y $-X-Y-$ puede ser, en particular, $-O-CH_2-$ o $-O-CHC(R^a)_3-$, tal como $-O-CH(CH_3)-$.

En una forma de realización particular de la invención, $-X-Y-$ es $-CR^aR^b-O-CR^aR^b-$, tal como $-CH_2-O-CH_2-$, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. En tales formas de realización particulares, R^a puede ser, en particular, alquilo, tal como metilo, R^b puede ser hidrógeno o metilo, en particular, hidrógeno. En algunas formas de realización, la enfermedad se selecciona de enfermedad de Alzheimer (AD), parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia frontotemporal (FTD) o FTDP-17.

En una forma de realización particular de la invención, $-X-Y-$ es $-O-CR^aR^b-O-CR^aR^b-$, tal como $-O-CH_2-O-CH_2-$, W es oxígeno, y R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno al mismo tiempo. R^a y R^b se seleccionan independientemente, de manera ventajosa, de hidrógeno, halógeno, alquilo y alcoxilalquilo, en particular, hidrógeno, metilo, fluoro y metoximetilo. En tal forma de realización particular, R^a puede ser, en particular, alquilo, tal como metilo, R^b puede ser hidrógeno o metilo, en particular, hidrógeno. Tales nucleósidos de LNA también se conocen como nucleótidos COC y se

Si uno de los materiales de inicio o compuestos de la invención contiene uno o más grupos funcionales que no son estables o que son reactivos en condiciones de reacción de uno o más grupos de reacción, los grupos protectores apropiados (como se describen, por ejemplo, en “Protective

Groups in Organic Chemistry” por T. W. Greene y P. G. M. Wuts, 3.^a ed., 1999, Wiley, Nueva York) se pueden introducir antes de la etapa crítica mediante la aplicación de métodos conocidos en el estado de la técnica. Dichos grupos protectores se pueden retirar en una etapa posterior de la síntesis usando métodos estándar descritos en la literatura. Los ejemplos de grupos protectores son tert-butoxicarbonilo (Boc), carbamato de 9-fluorenilmetilo (Fmoc), carbamato de 2-trimetilsililetilo (Teoc), carbobenciloxi (Cbz) y p-metoxibenciloxicarbonilo (Moz).

Los compuestos descritos en la presente pueden contener diversos centros asimétricos y se pueden presentar en forma de enantiómeros ópticamente puros, mezclas de enantiómeros, tal como racematos, mezclas de diastereoisómeros, racematos diastereoisoméricos o mezclas de racematos diastereoisoméricos.

La expresión "átomo de carbono asimétrico" significa un átomo de carbono con cuatro sustituyentes diferentes. De acuerdo con la convención de Cahn-Ingold-Prelog, un átomo de carbono asimétrico puede ser de la configuración "R" o "S".

Definiciones de grupos químicos

En la presente descripción, el término "alquilo", solo o en combinación, significa un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada con 1 a 8 átomos de carbono, en particular, un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada con 1 a 6 átomos de carbono, y más en particular, un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada con 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de grupo C₁-C₈ alquilo de cadena lineal o cadena ramificada son metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, tert-butilo, los pentilos isoméricos, los hexilos isoméricos, los heptilos isoméricos y los octilos isoméricos, en particular, metilo, etilo, propilo, butilo y pentilo. Ejemplos particulares de alquilo son metilo, etilo y propilo.

El término "cicloalquilo", solo o en combinación, significa un anillo de cicloalquilo con 3 a 8 átomos de carbono y particularmente un anillo de cicloalquilo con 3 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de cicloalquilo son ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo, más en particular, ciclopropilo y ciclobutilo. Un ejemplo particular de "cicloalquilo" es ciclopropilo.

El término "alcoxi", solo o en combinación, significa un grupo de la Fórmula alquil-O- en la que el término "alquilo" tiene el significado otorgado anteriormente, tal como metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, sec.butoxi y ter.butoxi. Los "alcoxi" particulares son metoxi y etoxi. Metoxietoxi es un ejemplo particular de "alcoxialcoxi".

El término "oxi", solo o en combinación, significa el grupo -O-.

El término "alquenilo", solo o en combinación, significa un residuo de hidrocarburo de cadena lineal o ramificada, que comprende un enlace olefínico y hasta 8, preferentemente, hasta 6, con particular preferencia, hasta 4 átomos de carbono. Ejemplos de grupos alquenilo son etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, isopropenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo e isobutenilo.

El término "alquinilo", solo o en combinación, significa un residuo de hidrocarburo de cadena

lineal o ramificada, que comprende un enlace triple y hasta 8, preferentemente, hasta 6, con particular preferencia, hasta 4 átomos de carbono.

Los términos "halógeno" o "halo", solos o en combinación, significan flúor, cloro, bromo o yodo y, particularmente, flúor, cloro o bromo y, más particularmente, flúor. El término "halo", en combinación con otro grupo, denota la sustitución de dicho grupo con al menos un halógeno, particularmente sustituido con uno a cinco halógenos, particularmente uno a cuatro halógenos, es decir, uno, dos, tres o cuatro halógenos.

El término "haloalquilo", solo o en combinación, denota un grupo alquilo sustituido con al menos un halógeno, particularmente sustituido con uno a cinco halógenos, particularmente uno a tres halógenos. Los ejemplos de haloalquilo incluyen monofluoro-, difluoro-o trifluoro-metilo, -etilo o -propilo, por ejemplo, 3,3,3-trifluoropropilo, 2-fluoroetilo, 2,2,2-trifluoroetilo, fluorometilo o trifluorometilo. Fluorometilo, difluorometilo y trifluorometilo son, en particular, "haloalquilo".

El término "halocicloalquilo", solo o en combinación, denota un grupo cicloalquilo como se definió anteriormente sustituido con al menos un halógeno, en particular, sustituido con uno a cinco halógenos, en particular, uno a tres halógenos. Ejemplos particulares de "halocicloalquilo" son halociclopropilo, en particular, fluorociclopropilo, difluorociclopropilo y trifluorociclopropilo.

Los términos "hidroxilo" e "hidroxi", solos o en combinación, significan el grupo -OH.

Los términos "tiohidroxilo" y "tiohidroxi", solos o en combinación, se refieren al grupo -SH.

El término "carbonilo", solo o en combinación, significa el grupo C(O)-.

El término "carboxi" o "carboxilo", solo o en combinación, se refiere al grupo -COOH.

El término "amino", solo o en combinación, se refiere al grupo amino primario (-NH₂), grupo amino secundario (-NH-) o grupo amino terciario (-N-).

El término "alquilamino", solo o en combinación, se refiere a un grupo amino como se definió anteriormente sustituido con uno o dos grupos alquilo como se definieron anteriormente.

El término "sulfonilo", solo o en combinación, se refiere al grupo -SO₂.

El término "sulfinilo", solo o en combinación, se refiere al grupo -SO-.

El término "sulfanilo", solo o en combinación, se refiere al grupo -S-.

El término "ciano", solo o en combinación, se refiere al grupo -CN.

El término "azido", solo o en combinación, se refiere al grupo -N₃.

El término "nitro", solo o en combinación, se refiere al grupo NO₂.

El término "formilo", solo o en combinación, se refiere al grupo -C(O)H.

El término "carbamoilo", solo o en combinación, se refiere al grupo -C(O)NH₂.

El término "carbamido", solo o en combinación, se refiere al grupo -NH-C(O)-NH₂.

El término "arilo", solo o en combinación, indica un sistema de anillos carbocíclicos mono- o bicíclicos aromáticos monovalentes que comprende 6 a 10 átomos de carbono del anillo, sustituidos opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo,

alquilo, alqueno, alquino, alcoxi, alcoxi-alquilo, alqueno-oxi, carboxilo, alcoxi-carbonilo, alquilo-carbonilo y formilo. Los ejemplos de arilo incluyen fenilo y naftilo, en particular, fenilo.

El término “heteroarilo”, solo o en combinación, indica un sistema de anillos heterocíclicos mono- o bicíclicos monovalentes aromáticos de 5 a 12 átomos del anillo, que comprende 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados de N, O y S, en donde el resto de los átomos del anillo son de carbono, sustituidos opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, alcoxi, alcoxi-alquilo, alqueno-oxi, carboxilo, alcoxi-carbonilo, alquilo-carbonilo y formilo. Los ejemplos de heteroarilo incluyen pirrolilo, furanilo, tienilo, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, triazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo, piridinilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, triazinilo, azepinilo, diazepinilo, isoxazolilo, benzofuranilo, isotiazolilo, benzotienilo, indolilo, isoindolilo, isobenzofuranilo, benzimidazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, benzooxadiazolilo, benzotiadiazolilo, benzotriazolilo, purinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, carbazolilo o acridinilo.

El término “heterociclilo”, solo o en combinación, se refiere a un sistema de anillos mono- o bicíclicos saturados o parcialmente insaturados monovalentes de 4 a 12, en particular, 4 a 9 átomos del anillo, que comprenden 1, 2, 3 o 4 heteroátomos del anillo seleccionados de N, O y S, en donde el resto de los átomos del anillo son de carbono, sustituidos opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, alcoxi, alcoxi-alquilo, alqueno-oxi, carboxilo, alcoxi-carbonilo, alquilo-carbonilo y formilo. Los ejemplos de heterociclilo monocíclico saturado son azetidino, pirrolidino, tetrahidrofuranilo, tetrahidro-tienilo, pirazolidino, imidazolidino, oxazolidino, isoxazolidino, tiazolidino, piperidino, tetrahidropirano, tetrahidrotiropirano, piperazino, morfolino, tiomorfolino, 1,1-dioxo-tiomorfolin-4-ilo, azepano, diazepano, homopiperazino u oxazepano. Los ejemplos de heterocicloalquilo bicíclico saturado son 8-aza-biciclo[3.2.1]octilo, quinuclidino, 8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]octilo, 9-aza-biciclo[3.3.1]nonilo, 3-oxa-9-aza-biciclo[3.3.1]nonilo, o 3-tia-9-aza-biciclo[3.3.1]nonilo. Los ejemplos de heterocicloalquilo parcialmente insaturado son dihidrofurilo, imidazolinilo, dihidro-oxazolilo, tetrahidro-piridinilo o dihidropirano.

Sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico

La expresión “sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico” se refiere a aquellas sales que retienen la eficacia y las propiedades biológicas de las bases libres o los ácidos libres, que no son biológicamente o de otro modo convenientes. Las sales se forman con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, particularmente ácido clorhídrico, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido salicílico y N-acetilcisteína.

Además, estas sales pueden prepararse a partir de la adición de una base inorgánica o una base orgánica al ácido libre. Las sales derivadas de una base inorgánica incluyen, entre otras, las sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, entre otras, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básico, tales como resinas de isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, lisina, arginina, N-etilpiperidina, piperidina y poliamina. El compuesto de la Fórmula (I) también puede estar presente en forma de zwitteriones. Las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico particularmente preferidas de los compuestos de la Fórmula (I) son las sales de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y ácido metansulfónico.

Grupo protector

La expresión “grupo protector”, sola o combinada, se refiere a un grupo que bloquea de manera selectiva un sitio reactivo en un compuesto multifuncional de modo que una reacción química se puede llevar a cabo de manera selectiva en otro sitio reactivo no protegido. Los grupos protectores se pueden eliminar. Los ejemplos de grupos protectores son grupos protectores de amino, grupos protectores de carboxi o grupos protectores de hidroxilo.

Degradación mediada por nucleasa

La degradación mediada por nucleasa se refiere a un oligonucleótido capaz de mediar la degradación de una secuencia de nucleótidos complementaria cuando se forma un dúplex con dicha secuencia.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido puede funcionar mediante degradación mediada por nucleasa del ácido nucleico diana, en donde los oligonucleótidos de la invención son capaces de reclutar una nucleasa, en particular, una endonucleasa, preferentemente, endorribonucleasa (RNasa), tal como RNasa H. Los ejemplos de diseños de oligonucleótidos que operan mediante mecanismos mediados por nucleasa son oligonucleótidos que, en general, comprenden una región de al menos 5 o 6 nucleósidos de ADN consecutivos y se flanquean de un lado o ambos lados mediante la mejora por afinidad de nucleósidos, por ejemplo, los *gapmer*, *headmer* y *tailmer*.

Actividad y reclutamiento de RNasa H

La actividad de RNasa H de un oligonucleótido antisentido se refiere a su capacidad para reclutar RNasa H cuando forma un dúplex con una molécula de ARN complementario. WO01/23613 proporciona métodos *in vitro* para determinar la actividad de RNasaH, que se puede usar para determinar la capacidad para reclutar RNasaH. En general, se considera que un oligonucleótido es capaz de reclutar RNasa H si, cuando se lo proporciona con una secuencia de ácido nucleico diana complementaria, tiene una velocidad inicial, medida en pmol/l/min, de al menos 5 %, tal como al menos 10 % o más de 20 % de la velocidad inicial determinada usando un oligonucleótido que tiene

la misma secuencia base que el oligonucleótido modificado en evaluación, pero solo contiene monómeros de ADN con enlaces fosforotioato entre todos los monómeros en el oligonucleótido, y usando la metodología que se proporciona en los Ejemplos 91 a 95 de WO01/23613 (que se incorpora en la presente por referencia). Para el uso en la determinación de la actividad de RHasa H, RNasa H1 humana recombinante se encuentra disponible de Lubio Science GmbH, Lucerne, Suiza.

Gapmer

El oligonucleótido antisentido de la invención, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este, puede ser un *gapmer*, también denominado oligonucleótido *gapmer* o diseños *gapmer*. Los *gapmer* antisentido se usan habitualmente para inhibir un ácido nucleico diana mediante degradación mediada por RNasa H. Un oligonucleótido *gapmer* comprende al menos tres regiones estructurales diferentes: de flanco 5', de separación y de flanco 3', F-G-F' en orientación '5 -> 3'. La región de "separación" (G) comprende una serie de nucleótidos de ADN contiguos que permiten que el oligonucleótido reclute RNasa H. La región de separación se flanquea mediante una región de flanco 5' (F) que comprende uno o más nucleósidos modificados en azúcar, de manera ventajosa, nucleósidos modificados en azúcar de alta afinidad, y mediante una región de flanco 3' (F') que comprende uno o más nucleósidos modificados en azúcar, de manera ventajosa, nucleósidos modificados en azúcar de alta afinidad. Los uno o más nucleósidos modificados en azúcar en las regiones F y F' mejoran la afinidad del oligonucleótido al ácido nucleico diana (es decir, son nucleósidos modificados en azúcar que mejoran la afinidad). En algunas formas de realización, el uno o más nucleósidos modificados en azúcar en las regiones F y F' son nucleósidos modificados en azúcar 2', tales como modificaciones de azúcar 2' de alta afinidad, por ejemplo, seleccionadas independientemente de LNA y 2'-MOE.

En un diseño de *gapmer*, los nucleósidos más cercanos a 5' y 3' de la región de separación son nucleósidos de ADN, y se ubican de manera adyacente a un nucleósido modificado en azúcar de la región 5' (F) o 3' (F'), respectivamente. Los flancos también se definen por tener al menos un nucleósido modificado en azúcar en el extremo más distante de la región de separación, es decir, en el extremo 5' del flanco 5' y en el extremo 3' del flanco 3'.

Las regiones F-G-F' forman una secuencia de nucleótidos contiguos. Los oligonucleótidos antisentido de la invención, o la secuencia de nucleótidos contiguos de estos, pueden comprender una región de *gapmer* de la fórmula F-G-F'.

La longitud completa del diseño de *gapmer* F-G-F' puede ser, por ejemplo, 12 a 32 nucleósidos, tal como 13 a 24, tal como 14 a 22 nucleósidos, tal como 14 a 17, tal como 16 a 18 nucleósidos, tal como 16 a 20 nucleótidos.

Por ejemplo, el oligonucleótido *gapmer* de la presente invención se puede representar mediante las siguientes fórmulas:

$F_{1-8}-G_{6-16}-F'_{2-8}$, tal como

$F_{2-8}-G_{6-14}-F'_{2-8}$, tal como

$F_{3-8}-G_{6-14}-F'_{2-8}$

siempre que la longitud completa de las regiones de *gapmer* F-G-F' sea al menos 10, tal como al menos 12, tal como al menos 14 nucleótidos de longitud.

En un aspecto de la invención, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contiguos de este consiste en o comprende un *gapmer* de la Fórmula 5'-F-G-F'-3', en donde las regiones F y F' independientemente comprenden o consisten en 1- 8 nucleósidos, de los cuales 2-4 se modifican en azúcar 2', y define el extremo 5' y 3' de las regiones F y F', y G es una región de 6 a 16 nucleósidos capaces de reclutar RNasa H.

Las regiones F, G y F' se definen con mayor detalle a continuación y se pueden incorporar en la Fórmula F-G-F'.

Gapmer - Región G

La región G (región de separación) del *gapmer* es una región de nucleósidos que permite al oligonucleótido reclutar RNasa H, tal como RNasa H1 humana, en general, nucleósidos de ADN. RNasa H es una enzima celular que reconoce el dúplex entre ADN y ARN, y escinde enzimáticamente la molécula de ARN. De manera adecuada, los *gapmer* pueden tener una región de separación (G) de al menos 5 o 6 nucleósidos de ADN contiguos, tal como 5 – 16 nucleósidos de ADN contiguos, tal como 6 – 15 nucleósidos de ADN contiguos, tal como 7-14 nucleósidos de ADN contiguos, tal como 8 – 12 nucleótidos de ADN contiguos, tal como 8 – 12 nucleótidos de ADN contiguos de longitud. En algunas formas de realización, la región de separación G puede consistir en 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 nucleósidos de ADN contiguos. El ADN de citosina (C) en la región de separación puede estar metilado en algunos casos, y tales residuos se indican como 5'-metil-citosina (^{me}C o con una e en lugar de una c). La metilación del ADN de citosina en la separación resulta ventajosa si los dinucleótidos cg están presentes en la separación para reducir la toxicidad potencial, la modificación no tiene un impacto significativo sobre la eficacia de los oligonucleótidos. Se informó que los nucleósidos de ADN 5' sustituidos, tales como el nucleósido de ADN 5' metilo, se pueden usar en regiones de separación de ADN (EP 2 742 136).

En algunas formas de realización, la región de separación G puede consistir en 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 nucleósidos de ADN contiguos unidos a fosforotioato. En algunas formas de realización, todos los enlaces internucleósido en la separación son enlaces de fosforotioato.

Mientras que los *gapmer* tradicionales tienen una región de separación de ADN, existen numerosos ejemplos de nucleósidos modificados que permiten el reclutamiento de RNasa H cuando se usan dentro de la región de separación. Los nucleósidos modificados que según se informó, son capaces de reclutar RNasa H cuando se incluyen dentro de una región de separación incluyen, por ejemplo, alfa-L-LNA, ADN alquilado C4' (como se describe en PCT/EP2009/050349 y Vester *et al.*,

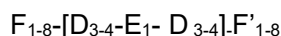
Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008) 2296 – 2300, que se incorporan en la presente por referencia), nucleósidos derivados de arabinosa, tales como ANA y 2'F-ANA (Mangos *et al.* 2003 J. AM. CHEM. SOC. 125, 654-661), UNA (ácido nucleico no bloqueado) (como se describe en Fluiters *et al.*, Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039 que se incorpora en la presente por referencia). UNA es ácido nucleico no bloqueado en donde, en general, se eliminó el enlace entre C2 y C3 de la ribosa, para formar un residuo de “azúcar” no bloqueado. Los nucleósidos modificados que se utilizan en dichos *gapmer* pueden ser nucleósidos que adoptan una estructura 2' endo (tipo ADN) cuando se introducen en la región de separación, es decir, modificaciones que permiten el reclutamiento de RNasa H). En algunas formas de realización, la región de separación (G) de ADN descrita en la presente puede contener, opcionalmente, 1 a 3 nucleósidos modificados en azúcar que adoptan una estructura 2' endo (tipo ADN) cuando se introducen en la región de separación.

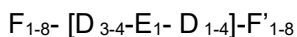
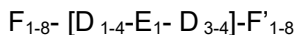
Región G - “Interruptor de separación”

De manera alternativa, existen numerosos informes sobre la inserción de un nucleósido modificado que confiere una conformación 3' endo en la región de separación de los *gapmer*, a la vez que retiene cierta actividad de RNasa H. Los *gapmer* con una región de separación que comprende uno o más nucleósidos modificados 3' endo se denominan *gapmer* “interruptores de separación” o *gapmer* “alterados por separación”; ver, por ejemplo, WO2013/022984. Los oligonucleótidos interruptores de separación retienen región de nucleósidos de ADN suficiente dentro de la región de separación para permitir el reclutamiento de RNasa H. La capacidad del diseño de oligonucleótido interruptor de separación para reclutar RNasa H es, en general, específica de secuencia o incluso de compuesto; ver Rukov *et al.* 2015 Nucl. Acids Res. vol. 43 pp. 8476-8487, que divulga oligonucleótidos “interruptores de separación” que reclutan RNasa H que, en algunos casos, proporciona una escisión más específica del ARN diana. Los nucleósidos modificados que se usan en la región de separación de oligonucleótidos interruptores de separación pueden ser, por ejemplo, nucleósidos modificados que confieren una conformación 3' endo, tales como nucleósidos de 2' -O-metilo (OMe) o 2'-O-MOE (MOE), o nucleósidos beta-D LNA (el puente entre C2' y C4' del anillo de azúcar ribosa de un nucleósido está en conformación beta), tales como nucleósidos de beta-D-oxi LNA o ScET.

Al igual que los *gapmer* que contienen la región G descrita anteriormente, la región de separación de los *gapmer* interruptores de separación o alterados por separación tiene un nucleósido de ADN en el extremo 5' de la separación (adyacente al nucleósido 3' de la región F) y un nucleósido de ADN en el extremo 3' de la separación (adyacente al nucleósido 5' de la región F'). Los *gapmer* que comprenden una separación alterada, en general, retienen una región de al menos 3 o 4 nucleósidos de ADN contiguos en el extremo 5' o el extremo 3' de la región de separación.

Los ejemplos de diseños para oligonucleótidos interruptores de separación incluyen





en donde la región G está entre corchetes $[D_n - E_r - D_m]$, D es una secuencia contigua de nucleósidos de ADN, E es un nucleósido modificado (el nucleósido interruptor de separación o alterado por separación), y F y F' son las regiones flanqueantes como se definen en la presente, y siempre que la longitud completa de las regiones de *gapmer* F-G-F' sea al menos 12, tal como al menos 14 nucleótidos de longitud.

En algunas formas de realización, la región G de un *gapmer* alterado por separación comprende al menos 6 nucleósidos de ADN, tal como 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 nucleósidos de ADN. Como se describió anteriormente, los nucleósidos de ADN pueden ser contiguos o pueden estar, de manera opcional, intercalados con uno o más nucleósidos modificados, siempre que la región de separación G sea capaz de mediar el reclutamiento de RNasa H.

Gapmer - regiones flanqueantes, F y F'

La región F se ubica inmediatamente adyacente al nucleósido de ADN 5' de la región G. El nucleósido más hacia 3' de la región F es un nucleósido modificado por azúcar, tal como un nucleósido modificado por azúcar de alta afinidad, por ejemplo, un nucleósido sustituido 2', tal como un nucleósido de MOE o un nucleósido de LNA.

La región F' se ubica inmediatamente adyacente al nucleósido de ADN 3' de la región G. El nucleósido más hacia 5' de la región F' es un nucleósido modificado por azúcar, tal como un nucleósido modificado por azúcar de alta afinidad, por ejemplo, un nucleósido sustituido 2', tal como un nucleósido de MOE o un nucleósido de LNA.

La región F tiene 1 – 8 nucleótidos contiguos de longitud, tal como 2-6, tal como 3-4 nucleótidos contiguos de longitud. De manera ventajosa, el nucleósido más hacia 5' de la región F es un nucleósido modificado en azúcar. En algunas formas de realización, los dos nucleósidos más hacia 5' de la región F son nucleósidos modificados en azúcar. En algunas formas de realización, el nucleósido más hacia 5' de la región F es un nucleósido de LNA. En algunas formas de realización, los dos nucleósidos más hacia 5' de la región F son nucleósidos de LNA. En algunas formas de realización, los dos nucleósidos más hacia 5' de la región F son nucleósidos 2' sustituidos, tales como dos nucleósidos de MOE 3'. En algunas formas de realización, el nucleósido más hacia 5' de la región F es un nucleósido 2' sustituido, tal como un nucleósido de MOE.

La región F' tiene 2 – 8 nucleótidos contiguos de longitud, tal como 3-6, tal como 4-5 nucleótidos contiguos de longitud. De manera ventajosa, el nucleósido más hacia 3' de la región F es un nucleósido modificado en azúcar. En algunas formas de realización, los dos nucleósidos más hacia 3' de la región F' son nucleósidos modificados en azúcar. En algunas formas de realización, los dos nucleósidos más hacia 3' de la región F' son nucleósidos de LNA. En algunas formas de realización, el nucleósido más hacia 3' de la región F' es un nucleósido de LNA. En algunas formas

de realización, los dos nucleósidos más hacia 3' de la región F' son nucleósidos 2' sustituidos, tales como dos nucleósidos de MOE 3'. En algunas formas de realización, el nucleósido más hacia 3' de la región F' es un nucleósido 2' sustituido, tal como un nucleósido de MOE.

Cabe destacar que, cuando la longitud de la región F o F' es uno, de manera ventajosa, es un nucleósido de LNA.

En algunas formas de realización, la región F y F' independientemente comprenden o consisten en una secuencia contigua de nucleósidos modificados en azúcar. En algunas formas de realización, los nucleósidos modificados en azúcar de la región F se pueden seleccionar independientemente de unidades de 2'-O-alkil-ARN, 2'-O-metil-ARN, unidades de 2'-amino-ADN, unidades de 2'-fluoro-ADN, 2'-alcoxi-ARN, unidades de MOE, unidades de LNA, unidades de ácido arabino nucleico (ANA) y unidades de 2'-fluoro-ANA.

En algunas formas de realización, la región F y F' comprenden independientemente LNA y un nucleósido modificado 2' sustituido (diseño de alas mixtas).

En algunas formas de realización, la región F y F' consisten en un solo tipo de nucleósidos modificados en azúcar, tal como solo MOE o solo beta-D-oxi LNA o solo ScET. Tales diseños también se denominan flancos uniformes o diseño de *gapmer* uniforme.

En algunas formas de realización, todos los nucleósidos de la región F o F', o F y F' son nucleósidos de LNA, por ejemplo, seleccionados independientemente de nucleósidos de beta-D-oxi LNA, ENA o ScET. En algunas formas de realización, la región F consiste en 1-5, tal como 2-4, tal como 3-4, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 nucleósidos de LNA contiguos. En algunas formas de realización, todos los nucleósidos de la región F y F' son nucleósidos de beta-D-oxi LNA.

En algunas formas de realización, todos los nucleósidos de la región F o F', o F y F' son nucleósidos sustituidos 2', tales como nucleósidos de OMe o MOE. En algunas formas de realización, la región F consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8 nucleósidos de OMe o MOE contiguos. En algunas formas de realización, solo una de las regiones flanqueantes puede consistir en nucleósidos 2' sustituidos, tales como nucleósidos de OMe o MOE. En algunas formas de realización, es la región flanqueante 5' (F) la que consiste en nucleósidos 2' sustituidos, tales como nucleósidos de OMe o MOE en donde la región flanqueante 3' (F') comprende al menos un nucleósido de LNA, tal como nucleósidos de beta-D-oxi LNA o nucleósidos de cET. En algunas formas de realización, es la región flanqueante 3' (F') la que consiste en nucleósidos 2' sustituidos, tales como nucleósidos de OMe o MOE en donde la región flanqueante 5' (F) comprende al menos un nucleósido de LNA, tal como nucleósidos de beta-D-oxi LNA o nucleósidos de cET.

En algunas formas de realización, todos los nucleósidos modificados de la región F y F' son nucleósidos de LNA, por ejemplo, seleccionados independientemente de nucleósidos de beta-D-oxi LNA, ENA o ScET, en donde la región F o F', o F y F' pueden comprender opcionalmente nucleósidos de ADN (un flanco alternante, ver definición de estos para más detalles). En algunas formas de

realización, todos los nucleósidos modificados de la región F y F' son nucleósidos de beta-D-oxi LNA, en donde la región F o F', o F y F' pueden comprender opcionalmente nucleósidos de ADN (un flanco alternante, ver definición de estos para más detalles).

En algunas formas de realización, los nucleósidos más hacia 5' y más hacia 3' de la región F y F' son nucleósidos de LNA, tales como nucleósidos de beta-D-oxi LNA o nucleósidos de ScET.

En algunas formas de realización, el enlace internucleósido entre la región F y la región G es un enlace internucleósido fosforotioato. En algunas formas de realización, el enlace internucleósido ubicado entre la región F' y la región G es un enlace internucleósido fosforotioato. En algunas formas de realización, los enlaces internucleósido entre los nucleósidos de la región F o F', F y F' son enlaces internucleósido fosforotioato.

Gapmer de LNA

Un *gapmer* de LNA es un *gapmer* en donde una de las regiones F y F' o ambas comprenden o consisten en nucleósidos de LNA. Un *gapmer* beta-D-oxi es un *gapmer* en donde una de las regiones F y F' o ambas comprenden o consisten en nucleósidos de beta-D-oxi LNA.

En algunas formas de realización, el *gapmer* de LNA es de la fórmula: [LNA]₁₋₅-[región G] - [LNA]₁₋₅, en donde la región G es como se define en la definición de la región G de *gapmer*.

En una forma de realización, el *gapmer* de LNA es de la Fórmula [LNA]₄-[región G]₁₀₋₁₂ -[LNA]₄

Gapmer de MOE

Un *gapmer* MOE es un *gapmer* en donde las regiones F y F' consisten en nucleósidos de MOE. En algunas formas de realización, el *gapmer* de MOE tiene el diseño [MOE]₁₋₈-[Región G]₅₋₁₆-[MOE]₁₋₈, tal como [MOE]₂₋₇-[Región G]₆₋₁₄-[MOE]₂₋₇, tal como [MOE]₃₋₆-[Región G]₈₋₁₂-[MOE]₃₋₆, en donde la región G es como se define en la definición de *gapmer*. Los *gapmer* de MOE con un diseño 5-10-5 (MOE-DNA-MOE) han sido ampliamente utilizados en el estado de la técnica.

Gapmer de alas mixtas

Un *gapmer* de alas mixtas es un *gapmer* de LNA en donde una de las regiones F y F' o ambas comprenden un nucleósido 2' sustituido, tal como un nucleósido 2' sustituido seleccionado independientemente del grupo que consiste en unidades de 2'-O-alquil-ARN, 2'-O-metil-ARN, unidades de 2'-amino-ADN, unidades de 2'-fluoro-ADN, 2'-alcoxi-ARN, unidades de MOE, unidades de ácido arabino nucleico (ANA) y unidades de 2'-fluoro-ANA, tales como nucleósidos de MOE. En algunas formas de realización en donde al menos una de las regiones F y F', o ambas regiones F y F', comprenden al menos un nucleósido de LNA, los nucleósidos restantes de las regiones F y F' se seleccionan independientemente del grupo que consiste en MOE y LNA. En algunas formas de realización en donde al menos una de las regiones F y F', o ambas regiones F y F', comprenden al menos dos nucleósidos de LNA, los nucleósidos restantes de las regiones F y F' se seleccionan independientemente del grupo que consiste en MOE y LNA. En algunas formas de realización de alas mixtas, una o ambas regiones F y F' también pueden comprender uno o más nucleósidos de

ADN.

Se divulgan diseños de *gapmer* de alas mixtas en WO2008/049085 y WO2012/109395, que se incorporan en la presente por referencia.

Gapmer de flancos alternantes

Las regiones de flaqueo pueden comprender nucleósidos de LNA y ADN y se denominan "flancos alternantes" ya que comprenden un motivo alternante de nucleósidos de LNA-ADN-LNA. Los *gapmer* que comprenden tales flancos alternantes se denominan "*gapmer* de flancos alternantes". Los "*gapmer* de flancos alternantes" son oligonucleótidos *gapmer* de LNA en donde al menos uno de los flancos (F o F') comprende ADN además de los nucleósidos de LNA. En algunas formas de realización, al menos una de las regiones F o F', o ambas regiones F y F', comprenden nucleósidos de LNA y nucleósidos de ADN. En tales formas de realización, la región de flaqueo F o F', o ambas F y F', comprenden al menos tres nucleósidos, en donde los nucleósidos más cercanos a 5' y 3' de las regiones F y/o F' son nucleósidos de LNA.

Los *gapmer* de LNA de flancos alternantes se divulgan en WO2016/127002.

Una región de flancos alternantes puede comprender hasta 3 nucleósidos de ADN contiguos, tales como 1 a 2, o 1 o 2 o 3 nucleósidos de ADN contiguos.

El flanco alternante se puede indicar como una serie de enteros, que representan una cantidad de nucleósidos de LNA (L), y luego, una cantidad de nucleósidos de ADN (D), por ejemplo,

[L]₁₋₃-[D]₁₋₄-[L]₁₋₃

[L]₁₋₂-[D]₁₋₂-[L]₁₋₂-[D]₁₋₂-[L]₁₋₂

En diseños de oligonucleótido, estos se representarán, con frecuencia, como números, de manera que 2-2-1 representa 5' [L]₂-[D]₂-[L]₁ 3', y 1-1-1-1-1 representa 5' [L]-[D]-[L]-[D]-[L] 3'. La longitud del flanco (región F y F') en oligonucleótidos con flancos alternantes puede ser, independientemente, de 3 a 10 nucleósidos, tal como 4 a 8, tal como 5 a 6 nucleósidos, tal como 4, 5, 6 o 7 nucleósidos modificados. En algunas formas de realización, solo uno de los flancos en el oligonucleótido *gapmer* es alternante, mientras que el otro está compuesto por nucleótidos de LNA. Puede resultar ventajoso tener al menos dos nucleósidos de LNA en el extremo 3' del flanco 3' (F'), para conferir resistencia adicional a exonucleasa. En una forma de realización, los flancos en el *gapmer* de flancos alternantes tienen una longitud total de 5 a 8 nucleósidos, de los cuales 3 a 5 son nucleósidos de LNA. Algunos ejemplos de oligonucleótidos con flancos alternantes son:

[L]₁₋₅-[D]₁₋₄-[L]₁₋₃-[G]₅₋₁₆-[L]₂₋₆

[L]₁₋₂-[D]₂₋₃-[L]₃₋₄-[G]₅₋₇-[L]₁₋₂-[D]₂₋₃-[L]₂₋₃

[L]₁₋₂-[D]₁₋₂-[L]₁₋₂-[D]₁₋₂-[L]₁₋₂-[G]₅₋₁₆-[L]₁₋₂-[D]₁₋₃-[L]₂₋₄

[L]₁₋₅-[G]₅₋₁₆-[L]-[D]-[L]-[D]-[L]₂

[L]₄-[G]₆₋₁₀-[L]-[D]₃-[L]₂

siempre que la longitud completa del *gapmer* F-G-F' sea al menos 12, tal como al menos 14

nucleótidos de longitud.

Regiones D' o D'' en un oligonucleótido

En algunas formas de realización, el oligonucleótido de la invención puede comprender o consistir en la secuencia de nucleótidos contiguos del oligonucleótido que es complementaria del ácido nucleico diana, tal como el *gapmer* F-G-F' y otros nucleósidos 5' y/o 3'. Los otros nucleósidos 5' y/o 3' pueden ser totalmente complementarios o no del ácido nucleico diana. Dichos otros nucleósidos 5' y/o 3' se pueden denominar regiones D' y D'' en la presente.

La adición de la región D' o D'' se puede usar a fin de unir la secuencia de nucleótidos contiguos, tal como el *gapmer*, con una porción conjugado u otro grupo funcional. Cuando se usa para unir la secuencia de nucleótidos contiguos con una porción conjugado puede funcionar como ligador bioescindible. De manera alternativa, se puede usar para proporcionar protección de exonucleasa o para facilitar la síntesis o preparación.

Las regiones D' y D'' se pueden unir al extremo 5' de la región F o al extremo 3' de la región F', respectivamente, para generar diseños de las siguientes fórmulas D'-F-G-F', F-G-F'-D'' o

D'-F-G-F'-D''. En este caso, F-G-F' es la porción *gapmer* del oligonucleótido, y las regiones D' o D'' constituyen una parte separada del oligonucleótido.

La región D' o D'' puede, independientemente, comprender o consistir en 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos adicionales, que pueden ser complementarios o no complementarios del ácido nucleico diana. El nucleótido adyacente a la región F o F' no es un nucleótido modificado en azúcar, tal como un ADN o ARN o versiones modificadas en la base de estos. La región D' o D' puede servir como ligador bioescindible sensible a nucleasa (ver definición de ligadores). En algunas formas de realización, los nucleótidos adicionales del extremo 5' y/o 3' se unen mediante enlaces fosfodiéster, y son ADN o ARN. Los ligadores bioescindibles a base de nucleótidos adecuados para el uso como región D' o D'' se divulgan en WO2014/076195, que incluyen, por ejemplo, un dinucleótido de ADN ligado a fosfodiéster. El uso de ligadores bioescindibles en constructos de poli-oligonucleótidos se divulga en WO2015/113922, en donde se usan para ligar múltiples constructos antisentido (por ejemplo, regiones de *gapmer*) en un solo oligonucleótido.

En una forma de realización, el oligonucleótido de la invención comprende una región D' y/o D'', además de la secuencia de nucleótidos contiguos que constituye el *gapmer*.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido de la presente invención se puede representar mediante las siguientes fórmulas:

F-G-F'; en particular, F₂₋₈-G₆₋₁₆-F'₂₋₈

D'-F-G-F', en particular, D'₂₋₃-F₁₋₈-G₆₋₁₆-F'₂₋₈

F-G-F'-D'', en particular F₂₋₈-G₆₋₁₆-F'₂₋₈-D''₁₋₃

D'-F-G-F'-D'', en particular D'₁₋₃-F₂₋₈-G₆₋₁₆-F'₂₋₈-D''₁₋₃

En algunas formas de realización, el enlace internucleósido ubicado entre la región D' y la

región F es un enlace fosfodiéster. En algunas formas de realización, el enlace internucleósido ubicado entre la región F' y la región D'' es un enlace fosfodiéster.

Conjugado

Como se usa en la presente, el término “conjugado” se refiere a un oligonucleótido que está ligado de manera covalente a una porción no nucleótido (porción conjugado o región C o tercera región).

La conjugación del oligonucleótido de la invención con una o más porciones no nucleótido puede mejorar la farmacología del oligonucleótido, por ejemplo, afectando la actividad, distribución celular, absorción celular o estabilidad del oligonucleótido. En algunas formas de realización, la porción conjugado modifica o potencia las propiedades farmacocinéticas del oligonucleótido al mejorar distribución celular, biodisponibilidad, metabolismo, excreción, permeabilidad y/o absorción celular del oligonucleótido. En particular, el conjugado puede dirigir el oligonucleótido a un órgano, tejido o tipo de célula específico y, en consecuencia, puede mejorar la eficacia del oligonucleótido en dicho órgano, tejido o tipo de célula. Al mismo tiempo, el conjugado puede servir para reducir la actividad del oligonucleótido en tipos de célula, tejidos u órganos no diana, por ejemplo, actividad no diana o actividad en tipos de células, tejidos u órganos no diana.

Los conjugados de oligonucleótido y su síntesis también se informó en reseñas extensas de Manoharan en *Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications*, S.T. Crooke, ed., cap. 16, Marcel Dekker, Inc., 2001 y Manoharan, *Antisense and Nucleic Acid Drug Development*, 2002, 12, 103, cada uno de los cuales se incorpora en la presente por referencia en su totalidad.

En una forma de realización, la porción no nucleótido (porción conjugado) se selecciona del grupo que consiste en carbohidratos (por ejemplo, GalNAc), ligandos de receptores de la superficie celular, sustancias farmacológicas, hormonas, sustancias lipófilas, polímeros, proteínas, péptidos, toxinas (por ejemplo, toxinas bacterianas), vitaminas, proteínas virales (por ejemplo, cápsides) o combinaciones de estos.

En algunas formas de realización, el conjugado es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que tiene una afinidad específica a un receptor de transferrina, por ejemplo, como se divulga en WO 2012/143379 que se incorpora en la presente por referencia. En algunas formas de realización, la porción no nucleótido es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, tal como un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que facilita la administración a lo largo de la barrera hematoencefálica, en particular, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que actúa sobre el receptor de transferrina.

Ligadores

Un enlace o ligador es una conexión entre dos átomos que une un grupo químico o segmento de interés con otro grupo químico o segmento de interés mediante uno o más enlaces covalentes. Las porciones conjugado se pueden unir al oligonucleótido directamente o mediante una porción ligadora (por ejemplo, ligador o enlace). Los ligadores sirven para conectar de manera covalente una

tercera región, por ejemplo, una porción conjugado (región C), con una primera región, por ejemplo, un oligonucleótido o secuencia de nucleótidos contiguos complementaria del ácido nucleico diana (región A).

En algunas formas de realización de la invención, el conjugado o conjugado de oligonucleótido de la invención puede comprender, opcionalmente, una región ligadora (segunda región o región B y/o región Y) que se ubica entre el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contiguos complementaria del ácido nucleico diana (región A o primera región) y la porción conjugado (región C o tercera región).

La región B se refiere a ligadores bioescindibles que comprenden o consisten en un enlace fisiológicamente lábil que se puede escindir en las condiciones en que se encuentran normalmente o análogas a aquellas que se encuentran en un cuerpo de mamífero. Las condiciones en las que los ligadores fisiológicamente lábiles se someten a transformación química (por ejemplo, escisión) incluyen condiciones químicas, tales como pH, temperatura, condiciones o agentes oxidativos o reductores, y concentración de sal que se encuentra en células de mamífero o análogas a estas. Las condiciones intracelulares de mamífero también incluyen la presencia de actividad enzimática normalmente presente en una célula de mamífero, tal como de peptidasas, hidrolasas o nucleasas. En una forma de realización, el ligador bioescindible es sensible a la escisión de nucleasa S1. En una forma de realización preferida, el ligador sensible a nucleasa comprende de 1 a 10 nucleósidos, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleósidos, con mayor preferencia, de 2 a 6 nucleósidos y, con máxima preferencia, de 2 a 4 nucleósidos ligados que comprenden al menos dos enlaces fosfodiéster consecutivos, tal como al menos 3 o 4 o 5 enlaces fosfodiéster consecutivos. Preferentemente, los nucleósidos son ADN o ARN. Los ligadores bioescindibles que contienen fosfodiéster se describen con mayor detalle en WO 2014/076195 (que se incorpora en la presente por referencia).

La región Y se refiere a ligadores que no son necesariamente bioescindibles, pero que sirven principalmente para conectar de manera covalente una porción conjugado (región C o tercera región) con un oligonucleótido (región A o primera región). Los ligadores de la región Y pueden comprender una estructura en cadena o un oligómero de unidades de repetición, tales como etilenglicol, unidades de aminoácidos o grupos aminoalquilo. Los conjugados de oligonucleótido de la presente invención se pueden construir a partir de los siguientes elementos regionales: A-C, A-B-C, A-B-Y-C, A-Y-B-C o A-Y-C. En algunas formas de realización, el ligador (región Y) es un aminoalquilo, tal como un grupo C2 – C36 aminoalquilo, que incluye, por ejemplo, grupos C6 a C12 aminoalquilo. En una forma de realización preferida, el ligador (región Y) es un grupo C6 aminoalquilo.

Tratamiento

Como se usa en la presente, el término “tratamiento” se refiere al tratamiento de una enfermedad existente (por ejemplo, una enfermedad o un trastorno que se indica en la presente), o a la prevención de una enfermedad, es decir, la profilaxis. Por lo tanto, se reconocerá que en algunas

formas de realización, el tratamiento que se indica en la presente puede ser profiláctico.

En algunas formas de realización, el tratamiento se realiza en un paciente al que se diagnosticó un trastorno neurológico, tal como un trastorno neurológico seleccionado del grupo que consiste en enfermedades neurodegenerativas que incluyen taupatías, enfermedad de Alzheimer (AD), parálisis supranuclear progresiva (PSP), degeneración ganglionar corticobasal (CBD), encefalopatía traumática crónica (CTE), demencia frontotemporal (FTD) y FTD con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (FTDP-17), enfermedad de Pick (PiD), enfermedad argirofílica granulosa (AGD), demencia senil con ovillos (TPSD), taupatía primaria de la edad (PART), síndrome de Down y enfermedad Lytico-Bodig. La regulación ascendente de Tau patológica se asocia con taupatías infantiles, inclusive hemimegalencefalía (HME), complejo de esclerosis tuberosa; displasia cortical focal tipo 2b; y ganglioglioma. Además, la expresión y/o el funcionamiento anormal de Tau también pueden estar asociados con otras enfermedades, tales como el síndrome de Hallervorden-Spatz, también conocido como neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro tipo 1 (NBIA1), gangliocitomas y panencefalitis esclerosante subaguda. Tau además puede tener una función en los trastornos convulsivos (por ejemplo, epilepsia), disfunción de red (por ejemplo, depresión) y trastornos motores (por ejemplo, enfermedad de Parkinson).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los oligonucleótidos de la invención

La invención se refiere a oligonucleótidos capaces de modular la expresión de Tau, tal como inhibir (regular de manera descendente) Tau. La modulación se logra mediante hibridación con un ácido nucleico diana que codifica Tau. El ácido nucleico diana puede ser una secuencia de ARNm de MAPT de mamífero, tal como una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1 y 2.

El oligonucleótido de la invención es un oligonucleótido antisentido que actúa sobre MAPT, lo que genera una expresión reducida de Tau.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido antisentido de la invención es capaz de modular la expresión de la diana inhibiéndola o regulándola de manera descendente. Preferentemente, dicha modulación produce una inhibición de la expresión de al menos 20 % en comparación con el nivel de expresión normal de la diana, con mayor preferencia, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 % o al menos 90 % de inhibición en comparación con el nivel de expresión normal de la diana. En algunas formas de realización, los oligonucleótidos de la invención pueden ser capaces de inhibir los niveles de expresión de Tau de ATXN2 al menos 60 % o 70 % *in vitro* después de la aplicación de 5 μ M de oligonucleótido en células neuronales primarias. En algunas formas de realización, los compuestos de la invención pueden ser capaces de inhibir los niveles de expresión de proteína Tau al menos 50 % *in vitro* después de la aplicación de 0,5 μ M de oligonucleótido en células neuronales primarias. De

manera adecuada, los ejemplos proporcionan ensayos que se pueden usar para medir la inhibición de proteínas o ARN de Tau (tal como Ejemplos 1 y 3). La modulación diana se produce mediante la hibridación entre una secuencia de nucleótidos contiguos del oligonucleótido y el ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, el oligonucleótido de la invención comprende errores de emparejamiento entre el oligonucleótido y el ácido nucleico diana. Pese a los errores de emparejamiento, la hibridación con el ácido nucleico diana todavía puede ser suficiente para mostrar una modulación deseada de la expresión de Tau. La afinidad de fijación reducida que surge de errores de emparejamiento se puede compensar mediante una mayor cantidad de nucleótidos en el oligonucleótido y/o una mayor cantidad de nucleósidos modificados capaces de aumentar la afinidad de fijación a la diana, tal como nucleósidos modificados en azúcar 2', que incluyen LNA, presentes en la secuencia de oligonucleótido.

Un aspecto de la presente invención se refiere a un oligonucleótido antisentido que comprende una secuencia de nucleótidos contiguos de al menos 10 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de complementariedad, por ejemplo, 90 % de complementariedad, con respecto a SEQ ID NO: 5.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido comprende una secuencia contigua de 10 a 30 nucleótidos de longitud, que es al menos 90 % complementaria, tal como al menos 91 %, tal como al menos 92 %, tal como al menos 93 %, tal como al menos 94 %, tal como al menos 95 %, tal como al menos 96 %, tal como al menos 97 %, tal como al menos 98 % o 100 % complementaria de una región del ácido nucleico diana o una secuencia diana.

Resulta ventajoso que el oligonucleótido de la invención, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este, sea totalmente complementario (100 % complementario) de una región del ácido nucleico diana, o en algunas formas de realización, puede comprender uno o dos errores de emparejamiento entre el oligonucleótido y el ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido comprende una secuencia de nucleótidos contiguos de 10 a 30 nucleótidos de longitud que es al menos 90 % complementaria, tal como totalmente (o 100 %) complementaria de nucleótidos contiguos de la posición 12051 a 12111, 39562 a 39593 o 72837 a 72940 de SEQ ID NO: 1.

En algunas formas de realización, la secuencia de oligonucleótido es 100 % complementaria de una región de ácido nucleico diana correspondiente presente en SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2.

Resulta ventajoso que el oligonucleótido antisentido sea complementario de una secuencia diana seleccionada de una de las regiones enumeradas en la Tabla 4. En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos contiguos del oligonucleótido antisentido es al menos 90 % complementaria de, tal como totalmente complementaria de una secuencia diana seleccionada R1-R2254 (Tabla 4). En algunas formas de realización, la secuencia de oligonucleótido es 100 % complementaria de R_223, R_738 o R_1298 (ver Tabla 4).

En algunas formas de realización, el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contiguos es 90 % complementaria, por ejemplo, completamente complementaria, de una región del ácido nucleico diana, en donde la región de ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en la posición 12051 – 12111 de SEQ ID NO: 1, tal como posición 12051 – 12079, posición 12085-12111 o posición 12060 – 12078 de SEQ ID NO: 1.

En otra forma de realización, el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contiguos es 90 % complementaria, tal como completamente complementaria, de una región del ácido nucleico diana, en donde la región de ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en la posición 39562-39593 de SEQ ID NO: 1, tal como posición 39573-39592 de SEQ ID NO: 1.

En otra forma de realización, el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contiguos es 90 % complementaria, tal como completamente complementaria, de una región del ácido nucleico diana, en donde la región de ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en la posición 72837-72940 de SEQ ID NO: 1, tal como posición 72861-72891 o posición 72862-72890 de SEQ ID NO: 1.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido comprende una secuencia de nucleótidos contiguos de 16 a 22 nucleótidos, tal como 16 a 20 nucleótidos de longitud, que es 100 % complementaria de nucleótidos contiguos en la posición 12060 a 12078, 39573 a 39592 o 72862-72890 de SEQ ID NO: 1.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido de la invención comprende o consiste en 10 a 35 nucleótidos de longitud, tal como de 10 a 30, tal como 11 a 25, tal como de 12 a 22, tal como de 14 a 20 o 14 a 18 nucleótidos contiguos de longitud. En una forma de realización, el oligonucleótido comprende o consiste en 16 a 22 nucleótidos de longitud. En una forma de realización preferida, el oligonucleótido comprende o consiste en 16 a 20 nucleótidos de longitud.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contiguos de este, comprende o consiste en 22 nucleótidos o menos, tal como 20 nucleótidos o menos, tal como 16, 17, 18, 19 o 20 nucleótidos. Se entiende que cualquier rango proporcionado en la presente incluye los valores extremos del rango. En consecuencia, si se indica que un oligonucleótido incluye de 10 a 30 nucleótidos, 10 y 30 nucleótidos están incluidos.

En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos contiguos de longitud. En una forma de realización preferida, el oligonucleótido comprende o consiste en 16, 17, 18, 19 o 20 nucleótidos de longitud.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias enumeradas en la Tabla 5 (sección Materiales y métodos).

En algunas formas de realización, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de identidad,

preferentemente, 100 % de identidad, con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 6 a 65 (ver secuencias de motivo enumeradas en la Tabla 5).

En algunas formas de realización, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de identidad, preferentemente, 100 % de identidad, con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 9, 11, 49, 53, 56 y 5 (ver secuencias de motivo enumeradas en la Tabla 5).

En algunas formas de realización, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de identidad, preferentemente, 100 % de identidad, con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 6 a 37 (ver secuencias de motivo enumeradas en la Tabla 5).

En algunas formas de realización, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de identidad, preferentemente, 100 % de identidad, con una secuencia de SEQ ID NO: 9 a 11 (ver secuencias de motivo enumeradas en la Tabla 5).

En algunas formas de realización, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de identidad, preferentemente, 100 % de identidad, con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 38 a 51 (ver secuencias de motivo enumeradas en la Tabla 5).

En algunas formas de realización, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de identidad, preferentemente, 100 % de identidad, con una secuencia de SEQ ID NO: 49 o 51 (ver secuencias de motivo enumeradas en la Tabla 5).

En algunas formas de realización, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de identidad, preferentemente, 100 % de identidad, con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 52 a 65 (ver secuencias de motivo enumeradas en la Tabla 5).

En algunas formas de realización, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos 90 % de identidad, preferentemente, 100 % de identidad, con una secuencia de SEQ ID NO: 56 o 62 (ver secuencias de motivo enumeradas en la Tabla 5).

Se entiende que las secuencias de nucleobases contiguas (secuencia de motivo) se pueden modificar para, por ejemplo, aumentar la resistencia a nucleasa y/o la afinidad de fijación al ácido nucleico diana.

El patrón en donde los nucleósidos modificados (tal como nucleósidos modificados de alta afinidad) se incorporan en la secuencia de oligonucleótido se denomina, generalmente, diseño de oligonucleótido.

Los oligonucleótidos de la invención se diseñan con nucleósidos modificados y nucleósidos de ADN. De manera ventajosa, se usan nucleósidos modificados de alta afinidad.

En una forma de realización, el oligonucleótido comprende al menos 1 nucleósido modificado, tal como al menos 2, 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 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15 o al menos 16 nucleósidos modificados. En una forma de realización, el oligonucleótido comprende de 1 a 10 nucleósidos modificados, tal como de 2 a 9 nucleósidos modificados, tal como de 3 a 8 nucleósidos modificados, tal como de 4 a 7 nucleósidos modificados, tal como 6 o 7 nucleósidos modificados. Las modificaciones adecuadas se describen en la sección "Definiciones" en "Nucleósido modificado", "Nucleósidos modificados de alta afinidad", "Modificaciones de azúcar", "Modificaciones de azúcar 2'" y "Ácidos nucleicos bloqueados (LNA)".

En una forma de realización, el oligonucleótido comprende uno o más nucleósidos modificados en azúcar, tales como nucleósidos modificados en azúcar 2'. Preferentemente, el oligonucleótido de la invención comprende uno o más nucleósidos modificados en azúcar 2' seleccionados independientemente del grupo que consiste en 2'-O-alkil-ARN, 2'-O-metil-ARN, 2'-alcoxi-ARN, 2'-O-metoxietil-ARN, 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ADN, ácido arabino nucleico (ANA), 2'-fluoro-ANA y nucleósidos de LNA. Resulta ventajoso si uno o más de los nucleósidos modificados es un ácido nucleico bloqueado (LNA).

En otra forma de realización, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleósido modificado. Las modificaciones internucleósido adecuadas se describen en la sección "Definiciones" en "Enlace internucleósido modificado". Resulta ventajoso que al menos 75 %, tal como 80 %, tal como todos los enlaces internucleósido en la secuencia de nucleótidos contiguos sean enlaces internucleósido fosforotioato o boranofosfato. En algunas formas de realización, todos los enlaces internucleótido en la secuencia contigua del oligonucleótido son enlaces fosforotioato.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido de la invención comprende al menos un nucleósido de LNA, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleósidos de LNA, tal como de 2 a 6 nucleósidos de LNA, tal como de 3 a 7 nucleósidos de LNA, 4 a 8 nucleósidos de LNA o 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleósidos de LNA. En algunas formas de realización, al menos 75 % de los nucleósidos modificados en el oligonucleótido son nucleósidos de LNA, tal como 80 %, tal como 85 %, tal como 90 % de los nucleósidos modificados son nucleósidos de LNA, en particular, beta-D-oxi LNA o ScET. Aun en otra forma de realización, todos los nucleósidos modificados en el oligonucleótido son nucleósidos de LNA. En otra forma de realización, el oligonucleótido puede comprender beta-D-oxi-LNA y uno o más de los siguientes nucleósidos de LNA: tio-LNA, amino-LNA, oxi-LNA, ScET y/o ENA en configuración beta-D o alfa-L, o combinaciones de estos. En otra forma de realización, todas las unidades de LNA citosina son 5-metil-citosina. Resulta ventajoso para la estabilidad de nucleasa del oligonucleótido o

secuencia de nucleótidos contiguos tener al menos 1 nucleósido de LNA en el extremo 5' y al menos 2 nucleósidos de LNA en el extremo 3' de la secuencia de nucleótidos.

En una forma de realización de la invención, el oligonucleótido de la invención es capaz de reclutar RNasa H.

En la presente invención, un diseño estructural ventajoso es un diseño de *gapmer* según se describe en la sección “Definiciones” en, por ejemplo, “*Gapmer*”, “*Gapmer* de LNA”, “*Gapmer* de MOE” y “*Gapmer* de alas mixtas” “*Gapmer* de flancos alternantes”. El diseño de *gapmer* incluye *gapmer* con flancos uniformes, flancos de alas mixtas, flancos alternantes y diseños de interrupción de separación. En la presente invención, es ventajoso que el oligonucleótido de la invención sea un *gapmer* con un diseño F-G-F', un *gapmer* particular de la Fórmula 5'-F-G-F'-3', en donde las regiones F y F' comprenden independientemente 1 a 8 nucleósidos, de los cuales 2 a 5 se modifican en azúcar 2', y que defina el extremo 5' y 3' de las regiones F y F', y que G sea una región de 6 a 16 nucleósidos capaces de reclutar RNasa H, tal como una región que comprende 6 – 16 nucleósidos de ADN.

En algunas formas de realización, el *gapmer* es un *gapmer* de LNA.

En algunas formas de realización de la invención, el *gapmer* de LNA se selecciona de los siguientes diseños de flanqueo uniforme 4-10-4, 3-11-4, 4-11-4, 4-12-4 o 4-14-2.

En algunas formas de realización de la invención, el *gapmer* de LNA se selecciona de los siguientes diseños de flanqueo uniforme 3-1-3-10-2, 1-3-4-6-1-3-2, 1-2-1-2-2-8-4 o 3-3-1-8-2-1-2.

La Tabla 5 (sección Materiales y métodos) enumera los diseños preferidos de cada secuencia de motivo.

En todos los casos, el diseño F-G-F' también puede incluir las regiones D' y/o D" como se describe en la sección “Definiciones” en “Región D' o D” en un oligonucleótido”. En algunas formas de realización, el oligonucleótido de la invención tiene 1, 2 o 3 unidades de nucleósido ligadas al fosfodiéster, tales como unidades de ADN, en el extremo 5' o 3' de la región *gapmer*.

Para algunas formas de realización de la invención, el oligonucleótido se selecciona del grupo de compuestos de oligonucleótido con CMP-ID-NO: 6_1; 7_1; 8_1; 9_1; 9_2; 9_3; 9_4; 9_5; 9_6; 9_7; 9_8; 9_9; 9_10; 9_11; 9_12; 9_13; 9_14; 9_15; 9_16; 9_17; 9_18; 9_19; 9_20; 9_21; 9_22; 9_23; 9_24; 9_25; 9_26; 9_27; 9_28; 9_29; 9_30; 9_31; 9_32; 9_33; 9_34; 9_35; 9_36; 9_37; 9_38; 9_39; 9_40; 9_41; 9_42; 9_43; 9_44; 9_45; 9_46; 9_47; 9_48; 9_49; 9_50; 9_51; 9_52; 9_53; 9_54; 9_55; 9_56; 9_57; 9_58; 9_59; 9_60; 9_61; 9_62; 9_63; 9_64; 9_65; 9_66; 9_67; 9_68; 9_69; 9_70; 9_71; 9_72; 9_73; 9_74; 9_75; 9_76; 9_77; 9_78; 9_79; 9_80; 9_81; 9_82; 9_83; 9_84; 9_85; 9_86; 9_87; 9_88; 9_89; 9_90; 9_91; 9_92; 9_93; 9_94; 9_95; 9_96; 9_97; 9_98; 9_99; 9_100; 9_101; 9_102; 9_103; 9_104; 9_105; 9_106; 10_1; 10_2; 10_3; 10_4; 10_5; 10_6; 10_7; 10_8; 10_9; 10_10; 10_11; 10_12; 10_13; 10_14; 10_15; 10_16; 10_17; 10_18; 10_19; 10_20; 10_21; 10_22; 10_23; 10_24; 10_25; 10_26; 10_27; 10_28; 10_29; 10_30; 10_31; 10_32; 10_33; 10_34; 10_35; 10_36; 10_37; 10_38; 10_39; 10_40; 10_41; 10_42; 10_43; 10_44; 10_45; 10_46; 10_47; 10_48; 10_49;

10_50; 10_51; 10_52; 10_53; 10_54; 10_55; 10_56; 10_57; 10_58; 10_59; 10_60; 10_61; 10_62;
10_63; 10_64; 10_65; 10_66; 10_67; 10_68; 10_69; 10_70; 10_71; 10_72; 10_73; 10_74; 10_75;
10_76; 10_77; 10_78; 10_79; 10_80; 10_81; 10_82; 10_83; 10_84; 10_85; 10_86; 10_87; 10_88;
10_89; 11_1; 12_1; 13_1; 14_1; 15_1; 16_1; 17_1; 18_1; 19_1; 20_1; 21_1; 22_1; 23_1; 24_1; 24_2;
24_3; 24_4; 24_5; 24_6; 24_7; 24_8; 24_9; 24_10; 24_11; 24_12; 24_13; 24_14; 24_15; 24_16;
24_17; 24_18; 24_19; 24_20; 24_21; 24_22; 24_23; 24_24; 24_25; 24_26; 24_27; 24_28; 24_29;
24_30; 24_31; 24_32; 24_33; 24_34; 24_35; 24_36; 24_37; 24_38; 24_39; 24_40; 24_41; 24_42;
24_43; 24_44; 24_45; 24_46; 24_47; 24_48; 24_49; 24_50; 24_51; 24_52; 24_53; 24_54; 24_55;
24_56; 24_57; 24_58; 24_59; 24_60; 24_61; 24_62; 25_1; 25_2; 25_3; 25_4; 25_5; 25_6; 25_7;
25_8; 25_9; 25_10; 25_11; 25_12; 25_13; 25_14; 25_15; 25_16; 25_17; 25_18; 25_19; 25_20;
25_21; 25_22; 25_23; 25_24; 25_25; 25_26; 25_27; 25_28; 25_29; 25_30; 25_31; 25_32; 25_33;
25_34; 25_35; 25_36; 25_37; 25_38; 25_39; 25_40; 25_41; 25_42; 25_43; 26_1; 26_2; 26_3; 26_4;
26_5; 26_6; 26_7; 26_8; 26_9; 26_10; 26_11; 26_12; 26_13; 26_14; 26_15; 26_16; 26_17; 26_18;
26_19; 26_20; 26_21; 26_22; 26_23; 26_24; 26_25; 26_26; 26_27; 26_28; 26_29; 26_30; 26_31;
27_1; 28_1; 28_2; 28_3; 28_4; 28_5; 28_6; 28_7; 28_8; 28_9; 28_10; 28_11; 28_12; 28_13; 28_14;
28_15; 28_16; 28_17; 28_18; 28_19; 28_20; 28_21; 28_22; 28_23; 28_24; 28_25; 28_26; 28_27;
28_28; 28_29; 28_30; 28_31; 28_32; 28_33; 29_1; 29_2; 29_3; 29_4; 29_5; 29_6; 29_7; 29_8; 29_9;
29_10; 29_11; 29_12; 29_13; 29_14; 30_1; 30_2; 30_3; 30_4; 30_5; 30_6; 30_7; 30_8; 30_9; 30_10;
30_11; 30_12; 30_13; 30_14; 30_15; 30_16; 30_17; 30_18; 30_19; 30_20; 30_21; 30_22; 30_23;
30_24; 30_25; 31_1; 31_2; 31_3; 32_1; 32_2; 32_3; 32_4; 32_5; 32_6; 32_7; 32_8; 32_9; 32_10;
32_11; 32_12; 32_13; 32_14; 32_15; 32_16; 32_17; 32_18; 32_19; 32_20; 32_21; 32_22; 32_23;
32_24; 32_25; 32_26; 32_27; 32_28; 32_29; 32_30; 32_31; 32_32; 32_33; 32_34; 32_35; 32_36;
32_37; 32_38; 32_39; 32_40; 32_41; 32_42; 32_43; 32_44; 32_45; 32_46; 32_47; 32_48; 32_49;
32_50; 32_51; 33_1; 33_2; 33_3; 33_4; 33_5; 33_6; 33_7; 33_8; 33_9; 33_10; 33_11; 33_12; 33_13;
33_14; 33_15; 33_16; 33_17; 33_18; 33_19; 33_20; 33_21; 33_22; 33_23; 33_24; 33_25; 33_26;
33_27; 33_28; 33_29; 33_30; 33_31; 33_32; 33_33; 34_1; 35_1; 35_2; 35_3; 36_1; 37_1; 38_1;
39_1; 40_1; 41_1; 42_1; 43_1; 44_1; 45_1; 46_1; 47_1; 48_1; 49_1; 49_2; 49_3; 49_4; 49_5; 49_6;
49_7; 49_8; 49_9; 49_10; 49_11; 49_12; 49_13; 49_14; 49_15; 49_16; 49_17; 49_18; 49_19; 49_20;
49_21; 49_22; 49_23; 49_24; 49_25; 49_26; 49_27; 49_28; 49_29; 49_30; 49_31; 49_32; 49_33;
49_34; 49_35; 49_36; 49_37; 49_38; 49_39; 49_40; 49_41; 49_42; 49_43; 49_44; 49_45; 49_46;
49_47; 49_48; 49_49; 49_50; 49_51; 49_52; 49_53; 49_54; 49_55; 49_56; 49_57; 49_58; 49_59;
49_60; 49_61; 49_62; 49_63; 49_64; 49_65; 49_66; 49_67; 49_68; 49_69; 49_70; 49_71; 49_72;
49_73; 49_74; 49_75; 49_76; 49_77; 49_78; 49_79; 49_80; 49_81; 49_82; 49_83; 49_84; 49_85;
49_86; 49_87; 49_88; 49_89; 49_90; 49_91; 49_92; 49_93; 49_94; 49_95; 49_96; 49_97; 49_98;
49_99; 49_100; 49_101; 49_102; 49_103; 49_104; 49_105; 49_106; 49_107; 49_108; 49_109;
49_110; 49_111; 49_112; 49_113; 49_114; 49_115; 49_116; 49_117; 49_118; 49_119; 49_120;

49_121; 49_122; 49_123; 49_124; 49_125; 49_126; 49_127; 49_128; 49_129; 49_130; 49_131; 49_132; 49_133; 49_134; 49_135; 49_136; 49_137; 49_138; 49_139; 49_140; 49_141; 49_142; 49_143; 49_144; 49_145; 49_146; 49_147; 49_148; 49_149; 49_150; 49_151; 49_152; 49_153; 49_154; 49_155; 49_156; 49_157; 49_158; 49_159; 49_160; 49_161; 49_162; 49_163; 49_164; 49_165; 49_166; 49_167; 49_168; 49_169; 49_170; 49_171; 49_172; 49_173; 49_174; 49_175; 49_176; 49_177; 49_178; 49_179; 49_180; 49_181; 49_182; 49_183; 49_184; 49_185; 49_186; 49_187; 49_188; 49_189; 49_190; 49_191; 49_192; 50_1; 51_1; 52_1; 53_1; 54_1; 55_1; 56_1; 57_1; 58_1; 59_1; 60_1; 61_1; 62_1; 63_1; 64_1 y 65_1.

En algunas formas de realización de la invención, el oligonucleótido se selecciona del grupo de compuestos de oligonucleótido con CMP-ID-NO: 9_102; 9_103; 9_104; 11_1; 49_38; 49_51; 49_179; 49_189; 53_1; 56_1 y 62_1.

En algunas formas de realización de la invención, el oligonucleótido se selecciona del grupo de compuestos de oligonucleótido con CMP-ID-NO: 9_102; 9_103; 9_104 y 11_1.

En algunas formas de realización de la invención, el oligonucleótido se selecciona del grupo de compuestos de oligonucleótido con CMP-ID-NO: 49_38; 49_51; 49_179 y 49_189.

En algunas formas de realización de la invención, el oligonucleótido se selecciona del grupo de compuestos de oligonucleótido con CMP-ID-NO: 53_1; 56_1 y 62_1.

Un oligonucleótido antisentido particularmente ventajoso, en el contexto de la invención, es un compuesto de oligonucleótido seleccionado del grupo que consiste en

CTTtAATttaatcactcAT	SEQ ID NO: 9; CMP ID NO: 9_102
CTTTaatttaacacTCAT	SEQ ID NO: 9; CMP ID NO: 9_103
CTTTaatttaacacCtCAT	SEQ ID NO: 9; CMP ID NO: 9_104
CTTTaatttaacacCTCA	SEQ ID NO: 11; CMP ID NO: 11_1
TtaaCTCAaatcaaTtctCA	SEQ ID NO: 49; CMP ID NO: 49_38
TtaActCAaatcaattCTCA	SEQ ID NO: 49; CMP ID NO: 49_51
TTAactCaaatcaatTctCA	SEQ ID NO: 49; CMP ID NO: 49_179
TTAAactcaaatcaattCTCA	SEQ ID NO: 49; CMP ID NO: 49_189
CAACaccttttaattcATTA	SEQ ID NO: 53; CMP ID NO: 53_1
CTCAatcaacaccttttaaTT	SEQ ID NO: 56; CMP ID NO: 56_1
TTAactcatcaacaCCTT	SEQ ID NO: 62; CMP ID NO: 62_1

en donde las letras mayúsculas son nucleósidos de beta-D-oxi LNA, las letras minúsculas son nucleósidos de ADN, todas las LNA C son 5-metil citosina, todos los enlaces internucleósido son enlaces internucleósido fosforotioato.

En una forma de realización, el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 9_103 como se muestra en la Figura 2.

En una forma de realización, el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 9_104 como se muestra en la Figura 3.

En una forma de realización, el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 11_1 como se

muestra en la Figura 4.

En una forma de realización, el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 49_38 como se muestra en la Figura 5.

En una forma de realización, el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 49_189 como se muestra en la Figura 6.

MÉTODO DE PREPARACIÓN

En otro aspecto, la invención proporciona métodos para preparar los oligonucleótidos de la invención que comprenden hacer reaccionar las unidades de nucleótidos y formar unidades de nucleótidos contiguas ligadas de manera covalente contenidas en el oligonucleótido. Preferentemente, el método usa química de fosforamidita (ver, por ejemplo, Caruthers et al, 1987, *Methods in Enzymology* vol. 154, páginas 287-313). En una forma de realización adicional, el método también comprende hacer reaccionar la secuencia de nucleótidos contiguos con una porción de conjugación (ligando) para unir de manera covalente la porción conjugada al oligonucleótido. En otro aspecto, se proporciona un método para preparar la composición de la invención, que comprende mezclar el oligonucleótido u oligonucleótido conjugado de la invención con un diluyente, solvente, portador, sal y/o adyuvante aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

Sal farmacéutica

Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden existir en forma de sus sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico. La expresión "sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico" se refiere a sales de adición ácida o sales de adición básica convencionales que retienen la eficacia y las propiedades biológicas de los compuestos de la presente invención y se forman de ácidos orgánicos o inorgánicos o bases orgánicas o inorgánicas no tóxicas adecuadas. Las sales de adición ácida incluyen, por ejemplo, aquellas derivadas de ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido fosfórico y ácido nítrico, y aquellas derivadas de ácidos orgánicos, tales como ácido *p*-toluensulfónico, ácido salicílico, ácido metansulfónico, ácido oxálico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico, ácido fumárico y similares. Las sales de adición básica incluyen aquellas derivadas de amonio, potasio, sodio e hidróxidos de amonio cuaternarios, tales como hidróxido de tetrametil amonio. La modificación química de un compuesto farmacéutico a una sal es una técnica conocida por los químicos farmacéuticos para obtener mejor estabilidad física y química, higroscopia, fluidez y solubilidad de compuestos. Se describe, por ejemplo, en Bastin, *Organic Process Research & Development* 2000, 4, 427-435 o en Ansel, en: *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 6.^a ed. (1995), pp. 196 y 1456-1457. Por ejemplo, la sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de los compuestos proporcionados en la presente puede ser una sal de sodio.

En otro aspecto de la invención se proporciona una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico del oligonucleótido antisentido o un conjugado de este. En una forma de realización

preferida, la sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico es una sal de sodio o una sal de potasio.

Composición farmacéutica

En otro aspecto, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los oligonucleótidos mencionados anteriormente y/o conjugados de oligonucleótidos o sales de estas y un diluyente, portador, sal y/o adyuvante aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Un diluyente aceptable desde el punto de vista farmacéutico incluye solución salina amortiguada con fosfato (PBS) y las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico incluyen, entre otros, sodio y sales de potasio. En algunas formas de realización, el diluyente aceptable desde el punto de vista farmacéutico es solución salina amortiguada con fosfato estéril. En algunas formas de realización, el oligonucleótido se usa en el diluyente aceptable desde el punto de vista farmacéutico a una concentración de 50 - 300 μ M de solución.

Las formulaciones adecuadas para usar en la presente invención se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadelfia, Pa., 17.^a ed., 1985. Para obtener una breve reseña de métodos para administración de fármacos, ver, por ejemplo, Langer (Science 249:1527-1533, 1990). WO 2007/031091 proporciona ejemplos adecuados y preferidos adicionales de diluyentes, portadores y adyuvantes aceptables desde el punto de vista farmacéutico (incorporados en la presente por referencia). Dosificaciones adecuadas, formulaciones, vías de administración, composiciones, formas de dosis, combinaciones con otros agentes terapéuticos, formulaciones de profármacos se proporcionan también en WO2007/031091.

Los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos de la invención se pueden mezclar con sustancias activas o inertes aceptables desde el punto de vista farmacéutico para la preparación de composiciones farmacéuticas o formulaciones. Las composiciones y los métodos para la formulación de composiciones farmacéuticas dependen de una cantidad de criterios que incluyen, entre otros, la vía de administración, el alcance de la enfermedad o la dosis que se debe administrar.

Estas composiciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales, o se pueden filtrar de manera estéril. Las soluciones acuosas resultantes se pueden envasar para su uso en el estado en que se encuentran, o se pueden liofilizar, en donde el preparado liofilizado se combina con un portador acuoso estéril antes de la administración. El pH de los preparados será normalmente de 3 a 11, con mayor preferencia, de 5 a 9 o de 6 a 8, y con máxima preferencia, de 7 a 8, por ejemplo, 7 a 7.5. Las composiciones resultantes en forma sólida se pueden envasar en múltiples unidades de dosis única, en donde cada una contiene una cantidad fija del agente o los agentes mencionados anteriormente, tal como en un envase sellado de comprimidos o cápsulas. La composición en forma sólida también se puede envasar en un recipiente para una cantidad flexible, por ejemplo, tubos compresibles diseñados para una crema o pomada de aplicación tópica.

En algunas formas de realización, el oligonucleótido o el conjugado de oligonucleótidos de la invención es un profármaco. En particular, con respecto a conjugados de oligonucleótidos, la porción conjugado se escinde del oligonucleótido una vez que el profármaco se administra en el sitio de acción, por ejemplo, la célula diana.

Aplicaciones

Los oligonucleótidos de la invención se pueden usar como reactivos de investigación, por ejemplo, para diagnósticos, tratamientos y profilaxis.

En investigación, dichos oligonucleótidos se pueden usar para modular específicamente la síntesis de la proteína Tau en células (por ejemplo, cultivos celulares *in vitro*) y animales experimentales, y así facilitar el análisis funcional de la diana o una valoración de su utilidad como una diana de la intervención terapéutica. Por lo general, la modulación diana se alcanza degradando o inhibiendo el ARNm que produce la proteína, lo que impide la formación de proteínas, o degradando o inhibiendo un modulador del gen o el ARNm que produce la proteína.

Si se usa el oligonucleótido de la invención en investigación o diagnóstico, el ácido nucleico diana puede ser un cADN o un ácido nucleico sintético derivado de ADN o ARN.

La presente invención proporciona un método *in vivo* o *in vitro* para modular la expresión de Tau en una célula diana que expresa Tau, dicho método comprende administrar a dicha célula un oligonucleótido de la invención en una cantidad eficaz.

En algunas formas de realización, la célula diana, es una célula mamífera, en particular una célula humana. La célula diana puede ser un cultivo celular *in vitro* o una célula *in vivo* que forma parte de un tejido en un mamífero. En formas de realización preferida, la célula diana está presente en el cerebro o el sistema nervioso central. En particular, las células en el tronco encefálico, cerebelo, corteza cerebral, corteza frontal, bulbo raquídeo/protuberancia y mesencéfalo y médula espinal son regiones diana relevantes. Para el tratamiento de la parálisis supranuclear progresiva (PSP), resulta ventajosa la reducción diana en las regiones del cerebro bulbo raquídeo/protuberancia y mesencéfalo. Para el tratamiento del Alzheimer, resulta ventajosa la reducción diana en las regiones del cerebro corteza cerebral, bulbo raquídeo/protuberancia y mesencéfalo. En particular, las neuronas, células nerviosas, axones y ganglios basales son tipos de célula relevantes.

En los diagnósticos, los oligonucleótidos se pueden usar para detectar y cuantificar la expresión de MAPT en células y tejidos mediante transferencia Northern, hibridación *in-situ* o técnicas similares.

Para la terapéutica, los oligonucleótidos se pueden administrar a un animal o un ser humano, que se sospecha que tiene una enfermedad o un trastorno, que se puede tratar modulando la expresión de Tau.

La invención proporciona métodos para tratar o prevenir una enfermedad, que comprenden administrar una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un oligonucleótido, un conjugado

de oligonucleótidos o una composición farmacéutica de la invención a un sujeto que sufre de o que es sensible a la enfermedad.

La invención también se refiere a un oligonucleótido, una composición o un conjugado como se define en la presente para usar como un medicamento.

El oligonucleótido, conjugado de oligonucleótidos o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención se administra, por lo general, en una cantidad eficaz.

La invención también proporciona el uso del oligonucleótido o del conjugado de oligonucleótidos como se describe para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mencionado en la presente, o para un método para el tratamiento de un trastorno mencionado en la presente.

Como se indica en la presente, la enfermedad o el trastorno se asocia con la expresión de Tau. En algunas formas de realización, la enfermedad o el trastorno puede estar asociado a una mutación en el gen Tau o un gen cuyo producto proteínico está asociado a Tau o interactúa con este. Por lo tanto, en algunas formas de realización, el ácido nucleico diana es una forma mutada de la secuencia de Tau y, en otras formas de realización, el ácido nucleico diana es un regulador de la secuencia de Tau.

Los métodos de la invención se usan preferentemente para el tratamiento o la profilaxis contra enfermedades causadas por actividad y/o niveles anormales de Tau.

La invención también se refiere al uso de un oligonucleótido, un conjugado de oligonucleótidos o una composición farmacéutica definida en la presente para la preparación de un medicamento para el tratamiento de niveles anormales y/o actividad de Tau.

En una forma de realización, la invención se refiere a oligonucleótidos, conjugados de oligonucleótidos o composiciones farmacéuticas para usar en el tratamiento de enfermedades o trastornos seleccionados de taupatías, enfermedad de Alzheimer (AD), parálisis supranuclear progresiva (PSP), degeneración ganglionar corticobasal (CBD), encefalopatía traumática crónica (CTE), demencia frontotemporal (FTD), FTDP-17, enfermedad de Pick (PiD), enfermedad argirofílica granulosa (AGD), demencia senil con ovillos (TPSD), taupatía primaria de la edad (PART), síndrome de Down, enfermedad Lytico-Bodig, taupatías infantiles que incluyen hemimegalencefalia (HME), complejo de esclerosis tuberosa, displasia cortical focal tipo 2b, ganglioglioma, síndrome de Hallervorden-Spatz, neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro tipo 1 (NBIA1), gangliocitomas, panencefalitis esclerosante subaguda, trastornos convulsivos (por ejemplo, epilepsia), disfunción de red (por ejemplo, depresión) y trastornos motores (por ejemplo, enfermedad de Parkinson).

En algunas formas de realización, la enfermedad se selecciona de enfermedad de Alzheimer (AD), parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia frontotemporal (FTD) o FTDP-17.

Administración

Los oligonucleótidos o composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar por vía parenteral (por ejemplo, administración intravenosa, subcutánea, intramuscular, intracerebral, intracerebroventricular, intraocular o intratecal).

En algunas formas de realización, la administración es por vía intratecal.

De manera ventajosa, por ejemplo, para el tratamiento de trastornos neurológicos, el oligonucleótido o las composiciones farmacéuticas de la presente invención se administran por vía intratecal o intracraneal, por ejemplo, por vía intracerebral o intraventricular.

La invención también proporciona el uso del oligonucleótido o un conjugado de este, por ejemplo, sales o composiciones farmacéuticas de la invención, para la preparación de un medicamento en donde el medicamento está en una forma de dosis para administración subcutánea.

La invención también proporciona el uso del oligonucleótido de la invención, o un conjugado de este, por ejemplo, sales o composiciones farmacéuticas de la invención, para la preparación de un medicamento en donde el medicamento está en una forma de dosis para administración intratecal.

La invención también proporciona el uso del oligonucleótido o conjugado de oligonucleótidos de la invención como se describe para la preparación de un medicamento, en donde el medicamento está en una forma de dosis para la administración intratecal.

Tratamientos conjuntos

En algunas formas de realización, el oligonucleótido, conjugado de oligonucleótidos o la composición farmacéutica de la invención es para usar en un tratamiento conjunto con otro agente terapéutico. El agente terapéutico puede ser, por ejemplo, el tratamiento de referencia para las enfermedades o los trastornos descritos anteriormente.

FORMAS DE REALIZACIÓN

Las siguientes formas de realización de la presente invención se pueden usar en combinación con cualquier otra forma de realización descrita en la presente.

1. Un oligonucleótido antisentido de 10 a 50 nucleótidos de longitud, que comprende una secuencia de nucleótidos contiguos de al menos 10 nucleótidos de longitud, por ejemplo, 10-30 nucleótidos de longitud, con al menos 90 % de complementariedad, por ejemplo, 100 % de complementariedad, con respecto a cualquier secuencia diana en la Tabla 4 (R_1 R_2254).
2. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 1, en donde la secuencia diana se selecciona de una de las regiones diana R_223, R_738 o R_1298, corresponde a SEQ ID NO: 3, 4 o 5, respectivamente.
3. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 1 o 2, en donde la secuencia de oligonucleótidos contiguos es 100 % complementaria a los nucleótidos contiguos en la posición 12051 a 12111, 39562 a 39593 o 72837 a 72940 de SEQ ID NO: 1.
4. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 3, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos es de al menos 16 nucleótidos y 100 % complementaria de los nucleótidos

contiguos en la posición 12060 a 12078, posición 39573 a 39592 o posición 72862-72890 de SEQ ID NO: 1.

5. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 4, en donde el oligonucleótido comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 6-65.

6. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 5, en donde el oligonucleótido comprende una secuencia de SEQ ID NO: 9 u 11.

7. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 5, en donde el oligonucleótido comprende una secuencia de SEQ ID NO: 49.

8. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 5, en donde el oligonucleótido comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 53, 56 y 62.

9. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1, 2 o 5 o 6, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos tiene 0 a 3 errores de emparejamiento en comparación con la secuencia diana de la cual es complementaria.

10. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 9, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos tiene un error de emparejamiento en comparación con la secuencia diana.

11. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 9, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos tiene dos errores de emparejamiento en comparación con la secuencia diana.

12. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 9, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos es totalmente complementaria de la secuencia diana.

13. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 12, en donde el oligonucleótido es capaz de modular la expresión de Tau.

14. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 13, en donde el oligonucleótido es capaz de reducir la expresión de Tau.

15. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 14, en donde el oligonucleótido es capaz de hibridarse con la secuencia diana con una ΔG° por debajo de -10 kcal.

16. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 15, en donde la secuencia diana está ubicada en el ARN.

17. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 16, en donde el ARN es ARNm.

18. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 17, en donde el ARNm es pre-ARNm.

19. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 18, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en al menos 14 nucleótidos contiguos, en particular, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 nucleótidos contiguos.

20. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 18, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 16 a 22 nucleótidos.

21. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 20, en donde la secuencia de nucleótidos contiguos comprende o consiste en 18 a 20 nucleótidos.

22. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 21, en donde el oligonucleótido comprende o consiste en 14 a 30 nucleótidos de longitud.
23. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 22, en donde el oligonucleótido comprende o consiste en 16 a 24 nucleótidos de longitud.
24. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 22 o 24, en donde el oligonucleótido comprende o consiste en 18 a 20 nucleótidos de longitud.
25. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 24, en donde el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contiguos es monocatenario.
26. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 25, en donde el oligonucleótido no es siARN ni autocomplementario.
27. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 26, que comprende uno o más nucleósidos modificados.
28. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 27, en donde el uno o más nucleósidos modificados es un nucleósido modificado de alta afinidad.
29. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 27 o 28, en donde el uno o más nucleósidos modificados es un nucleósido modificado en azúcar 2'.
30. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 29, en donde el uno o más nucleósidos modificados en azúcar 2' se seleccionan independientemente del grupo que consiste en 2'-O-alkil-ARN, 2'-O-metil-ARN, 2'-alcoxi-ARN, 2'-O-metoxietil-ARN, 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ADN, 2'-fluoro-ANA y nucleósidos de LNA.
31. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 29 o 30, en donde el uno o más nucleósidos modificados en azúcar 2' es un nucleósido de LNA.
32. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la forma de realización 31, en donde el nucleósido de LNA se selecciona de oxi-LNA, amino-LNA, tio-LNA, cET y ENA.
33. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la forma de realización 31 o 32, en donde el nucleósido de LNA modificado es oxi-LNA con el siguiente puente 2'-4': $-O-CH_2-$.
34. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la forma de realización 33, en donde el oxi-LNA es beta-D-oxi-LNA.
35. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la forma de realización 31 o 32, en donde el nucleósido de LNA modificado es cET con el siguiente puente 2'-4': $-O-CH(CH_3)-$.
36. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la forma de realización 35, en donde el cET es (S)cET, es decir, 6'(S)metil-beta-D-oxi-LNA.
37. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la forma de realización 31 o 32, en donde el LNA es ENA, con el siguiente puente 2' – 4': $-O-CH_2-CH_2-$.
38. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 29 o 30, en donde el uno o más nucleósidos modificados en azúcar 2' es un nucleósido de MOE.

39. El oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 38, en donde el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleósido modificado.
40. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 39, en donde el enlace internucleósido modificado es resistente a nucleasa.
41. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 39 o 40, en donde al menos 50 % de los enlaces internucleósido en la secuencia de nucleótidos contiguos son enlaces internucleósido de fosforotiotato o enlaces internucleósido de boranofosfato.
42. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con las formas de realización 1 a 8 en donde el 80 % de los enlaces internucleósido en la secuencia de nucleótidos contiguos son enlaces internucleósido de fosforotiotato.
43. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 39 a 42 en donde todos los enlaces internucleósido en la secuencia de nucleótidos contiguos son enlaces internucleósido de fosforotiotato.
44. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 43, en donde el oligonucleótido es capaz de reclutar RNasa H.
45. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 44, en donde el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contiguos es un *gapmer*.
46. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 45, en donde el *gapmer* tiene la fórmula 5'-F-G-F'-3', en donde las regiones de ala F y F' independientemente comprenden o consisten en 1 a 8 nucleósidos, de los cuales 2 a 5 son nucleósidos modificados en azúcar 2' de acuerdo con las formas de realización 32 a 38, y G es una región de 6 a 16 nucleósidos que son capaces de reclutar RNasa H.
47. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con la forma de realización 46, en donde cada región de ala (F y F') se caracteriza por tener al menos un nucleósido modificado en azúcar 2' en el terminal 5' y el terminal 3' del ala, y la región G tiene al menos un nucleósido de ADN adyacente a las regiones de ala (por ejemplo, terminales 5' y 3' de la región G).
48. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 46 o 47, en donde todos los nucleósidos modificados en azúcar 2' en las regiones F y F' son nucleósidos de LNA idénticos.
49. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 48, en donde todos los nucleósidos de LNA son nucleósidos de oxi-LNA.
50. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 46 o 47, en donde todos los nucleósidos modificados en azúcar 2' en las regiones F y F' son nucleósidos de MOE idénticos.
51. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 46 - 50, en donde
- la región F tiene entre 3 y 8 nucleótidos de longitud y consiste en 3-5 nucleósidos de LNA idénticos y 0-4 nucleósidos de ADN; y
 - la región F' tiene entre 2 y 6 nucleótidos de longitud y consiste en 2-4 nucleósidos de LNA

idénticos y 0-2 nucleósidos de ADN; y

c. la región G tiene entre 6 y 14 nucleótidos de ADN.

52. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 46 o 47, en donde al menos una de las regiones F o F' también comprende al menos un nucleósido modificado 2' sustituido que se selecciona independientemente del grupo que consiste en 2'-O-alkil-ARN, 2'-O-metil-ARN, 2'-alcoxi-ARN, 2'-O-metoxietil-ARN, 2'-amino-ADN y 2'-fluoro-ADN.

53. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 46 a 50 o 52, en donde los nucleósidos que reclutan RNasa H en la región G se seleccionan independientemente de ADN, alfa-L-LNA, ADN alquilado C4', ANA y 2'F-ANA y UNA.

54. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 53, en donde los nucleósidos en la región G son nucleósidos de ADN y/o alfa-L-LNA.

55. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 53 o 54, en donde la región G consiste en al menos 75 % de nucleósidos de ADN.

56. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 53 a 55, en donde todos los nucleótidos de la región G son de ADN.

57. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1-56, en donde el oligonucleótido se selecciona de CMP ID NO: 9_102; 9_103; 9_104; 11_1; 49_38; 49_51; 49_179; 49_189; 53_1; 56_1 y 62_1.

58. El oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 57, en donde el oligonucleótido es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en

CTTtAATttaatcactcAT	SEQ ID NO: 9; CMP ID NO: 9_102
CTTTaatttaatcacTCAT	SEQ ID NO: 9; CMP ID NO: 9_103
CTTTaatttaatcaCtCAT	SEQ ID NO: 9; CMP ID NO: 9_104
CTTTaatttaatcaCTCA	SEQ ID NO: 11; CMP ID NO: 11_1
TtaaCTCAaatcaaTtctCA	SEQ ID NO: 49; CMP ID NO: 49_38
TtaActCAaatcaattCTCA	SEQ ID NO: 49; CMP ID NO: 49_51
TTAactCaaatcaatTCtCA	SEQ ID NO: 49; CMP ID NO: 49_179
TTAactcaaatcaattCTCA	SEQ ID NO: 49; CMP ID NO: 49_189
CAACaccttttaattcATTA	SEQ ID NO: 53; CMP ID NO: 53_1
CTCAatcaacaccttttaaTT	SEQ ID NO: 56; CMP ID NO: 56_1
TTAactcatcaacaCCTT	SEQ ID NO: 62; CMP ID NO: 62_1

en donde las letras mayúsculas son nucleósidos de beta-D-oxi LNA, las letras minúsculas son nucleósidos de ADN, todas las LNA C son 5-metil citosina, todos los enlaces internucleósido son enlaces internucleósido fosforotioato.

59. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 – 58, en donde el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 9_103 como se muestra en la Figura 2.

60. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 – 58, en donde el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 9_104 como se muestra en la Figura 3.

61. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 – 58, en donde el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 11_1 como se muestra en la Figura 4.
62. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 – 58, en donde el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 49_38 como se muestra en la Figura 5.
63. El oligonucleótido antisentido de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 – 58, en donde el oligonucleótido antisentido es CMP ID NO: 49_189 como se muestra en la Figura 6.
64. Un conjugado que comprende el oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 58, y al menos una porción conjugado unida de manera covalente a dicho oligonucleótido.
65. El conjugado de oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 59, en donde la porción conjugado se selecciona de carbohidratos, ligandos de receptores de la superficie celular, sustancias farmacológicas, hormonas, sustancias lipófilas, polímeros, proteínas, péptidos, toxinas, vitaminas, proteínas virales o combinaciones de estos.
66. El conjugado de oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 59 o 65, en donde el conjugado facilita la administración a través de la barrera hematoencefálica.
67. El conjugado de oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 66, en donde el conjugado es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que actúa sobre el receptor de transferrina.
68. El conjugado de oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 59-67, que comprende un ligador que está ubicado entre el oligonucleótido y la porción conjugado.
69. El conjugado de oligonucleótido de acuerdo con la forma de realización 68, en donde el ligador es un ligador fisiológicamente lábil.
70. Una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 58 o un conjugado de acuerdo con las formas de realización 59 a 69 y un diluyente, portador, sal y/o adyuvante aceptables desde el punto de vista farmacéutico.
71. Un método para preparar el oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 58, que comprende hacer reaccionar unidades de nucleótidos para así formar unidades de nucleótidos contiguos ligadas de manera covalente comprendidas en el oligonucleótido.
72. El método de acuerdo con la forma de realización 71, que también comprende hacer reaccionar la secuencia de nucleótidos contiguos con una porción de conjugación no nucleótido.
73. Un método para preparar la composición de acuerdo con la forma de realización 70, que comprende mezclar el oligonucleótido con un diluyente, portador, sal y/o adyuvante aceptables desde el punto de vista farmacéutico.
74. Un método *in vivo* o *in vitro* para modular la expresión de Tau en una célula diana que expresa Tau, en donde dicho método comprende administrar a dicha célula un oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 57 o un conjugado de acuerdo con las formas de realización 59 a 69 o la composición farmacéutica de acuerdo con la forma de realización 70 en una cantidad eficaz.

75. Un método para tratar o prevenir una enfermedad que comprende administrar una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 58 o un conjugado de acuerdo con las formas de realización 59 a 69 o la composición farmacéutica de acuerdo con la forma de realización 70 a un sujeto que tiene o es sensible a la enfermedad.

76. El oligonucleótido de acuerdo con las formas de realización 1 a 57 o un conjugado de acuerdo con las formas de realización 59 a 69 o la composición farmacéutica de acuerdo con la forma de realización 70, para usar como un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad en un sujeto.

77. El uso del oligonucleótido de las formas de realización 1 a 58 o un conjugado de las formas de realización 59 a 69 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad en un sujeto.

78. El método, el oligonucleótido o el uso de acuerdo con las formas de realización 75 a 77, en donde la enfermedad se asocia a la actividad *in vivo* de Tau.

79. El método, el oligonucleótido o el uso de acuerdo con las formas de realización 75 a 78, en donde la enfermedad se asocia a la sobreexpresión de Tau y/o niveles anormales de Tau.

80. El método, el oligonucleótido o el uso de la forma de realización 79, en donde la Tau se reduce en al menos 30 %, o al menos 40 %, o al menos 50 %, o al menos 60 %, o al menos 70 %, o al menos 80 %, o al menos 90 %, o al menos 95 % en comparación con la expresión sin el oligonucleótido de las formas de realización 1 a 58 o un conjugado de las formas de realización 59 a 69 o la composición farmacéutica de la forma de realización 70.

81. El método, el oligonucleótido o el uso de acuerdo con las formas de realización 75-79, en donde la enfermedad se selecciona de taupatías, enfermedad de Alzheimer (AD), parálisis supranuclear progresiva (PSP), degeneración ganglionar corticobasal (CBD), encefalopatía traumática crónica (CTE), demencia frontotemporal (FTD) y FTDP-17, enfermedad de Pick (PiD), enfermedad argirofílica granulosa (AGD), demencia senil con ovillos (TPSD), taupatía primaria de la edad (PART), síndrome de Down, enfermedad Lytico-Bodig, taupatías infantiles que incluyen hemimegalencefalia (HME), complejo de esclerosis tuberosa, displasia cortical focal tipo 2b, ganglioglioma, síndrome de Hallervorden-Spatz, neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro tipo 1 (NBIA1), gangliocitomas, panencefalitis esclerosante subaguda, trastornos convulsivos (por ejemplo, epilepsia), disfunción de red (por ejemplo, depresión) y trastornos motores (por ejemplo, enfermedad de Parkinson).

82. El método, el oligonucleótido o el uso de acuerdo con las formas de realización 75-79, en donde la enfermedad se selecciona de enfermedad de Alzheimer (AD), parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia frontotemporal (FTD) o FTDP-17.

83. El método, el oligonucleótido o el uso de acuerdo con las formas de realización 75 a 82, en donde

el sujeto es un mamífero.

84. El método, el oligonucleótido o el uso de acuerdo con la forma de realización 83, en donde el mamífero es un ser humano.

EJEMPLOS

Materiales y métodos

Secuencias de motivo de oligonucleótidos y compuestos de oligonucleótido

Tabla 5: lista de secuencias de motivo de oligonucleótidos (indicada por SEQ ID NO), diseños de estas, y compuestos de oligonucleótidos específicos (indicados por CMP ID NO) diseñados en función de la secuencia de motivo.

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
6	tcactcatgccttaac	4-11-2	TCACtcatgccttaaTC	6_1	12051	A
7	taatcactcatgcctta	4-9-4	TAATcactcatgcCTTA	7_1	12054	A
8	taatcactcatgcctt	4-8-4	TAATcactcatgcCCTT	8_1	12055	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-1-2-1-1-3	CtttaatttaaTcaCtCAT	9_1	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-1-1-2-1-3	CtttaatttaaTcAcTcCAT	9_2	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-2-3-3	CtttaatttaaTCactCAT	9_3	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-2-2-4	CtttaatttaaTCacTCAT	9_4	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-2-1-1-2-2	CtttaatttaaTCaCtcAT	9_5	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-2-1-1-1-3	CtttaatttaaTCaCtCAT	9_6	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-3-3-2	CtttaatttaaTCActcAT	9_7	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-3-2-3	CtttaatttaaTCActCAT	9_8	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-3-1-4	CtttaatttaaTCacTCAT	9_9	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-10-4-2-2	CtttaatttaaTCAcTcAT	9_10	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-5-1-8-4	CtttaaTttaatcacTCAT	9_11	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-5-1-7-1-1-3	CtttaaTttaatcaCtCAT	9_12	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-5-1-6-1-2-3	CtttaaTttaatcActCAT	9_13	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-5-1-6-1-1-4	CtttaaTttaatcAcTCAT	9_14	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-5-1-6-2-1-3	CtttaaTttaatcAcTcCAT	9_15	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-4-1-9-4	CtttaAtttaatcacTCAT	9_16	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-4-2-8-4	CtttaATttaatcacTCAT	9_17	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-3-1-10-4	CtttAatttaatcacTCAT	9_18	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-3-1-9-1-1-3	CtttAatttaatcaCtCAT	9_19	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-3-1-1-1-8-4	CtttAaTttaatcacTCAT	9_20	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-3-2-9-4	CtttAAttaatcacTCAT	9_21	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-3-3-8-4	CtttAATttaatcacTCAT	9_22	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-2-1-11-4	CttTaatttaatcacTCAT	9_23	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-2-1-10-1-1-3	CttTaatttaatcaCtCAT	9_24	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-2-1-2-1-8-4	CttTaaTttaatcacTCAT	9_25	12060	A
9	ctttaatttaacactcat	1-2-1-1-1-9-4	CttTaAtttaatcacTCAT	9_26	12060	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
9	ctttaatttaatacactcat	1-2-1-1-2-8-4	CttTaATttaatacacTCAT	9_27	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-2-2-11-3	CttTAatttaatacactCAT	9_28	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-2-2-10-4	CttTAatttaatacacTCAT	9_29	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-2-2-9-1-2-2	CttTAatttaatacaCtcAT	9_30	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-2-2-9-1-1-3	CttTAatttaatacaCtCAT	9_31	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-2-2-1-1-8-4	CttTAaTttaatacacTCAT	9_32	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-2-3-9-4	CttTAAtttaatacacTCAT	9_33	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-2-4-10-2	CttTAATttaatacactcAT	9_34	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-2-4-8-4	CttTAATttaatacacTCAT	9_35	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-1-3-1-8-4	CtTtaaTttaatacacTCAT	9_36	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-1-2-1-9-4	CtTtaAtttaatacacTCAT	9_37	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-1-2-2-8-4	CtTtaATttaatacacTCAT	9_38	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-1-1-1-10-4	CtTtAatttaatacacTCAT	9_39	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-1-1-1-9-1-1-3	CtTtAatttaatacaCtCAT	9_40	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-1-1-1-1-1-8-4	CtTtAaTttaatacacTCAT	9_41	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-1-1-2-9-4	CtTtAAtttaatacacTCAT	9_42	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-1-1-3-8-4	CtTtAATttaatacacTCAT	9_43	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-2-11-4	CtTTaatttaatacacTCAT	9_44	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-2-10-1-2-2	CtTTaatttaatacaCtcAT	9_45	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-2-10-1-1-3	CtTTaatttaatacaCtCAT	9_46	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-2-2-1-8-4	CtTTaaTttaatacacTCAT	9_47	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-2-1-1-9-4	CtTTaAtttaatacacTCAT	9_48	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-2-1-2-10-2	CtTTaATttaatacactcAT	9_49	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-2-1-2-8-4	CtTTaATttaatacacTCAT	9_50	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-3-11-3	CtTTAatttaatacactCAT	9_51	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-3-10-4	CtTTAatttaatacacTCAT	9_52	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-3-9-1-2-2	CtTTAatttaatacaCtcAT	9_53	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-3-9-1-1-3	CtTTAatttaatacaCtCAT	9_54	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-3-1-1-10-2	CtTTAaTttaatacactcAT	9_55	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-3-1-1-8-4	CtTTAaTttaatacacTCAT	9_56	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-4-11-2	CtTTAAtttaatacactcAT	9_57	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	1-1-4-9-4	CtTTAAtttaatacacTCAT	9_58	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	2-11-1-2-3	CTtaatttaatacActCAT	9_59	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	2-11-1-1-4	CTtaatttaatacAcTCAT	9_60	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	2-11-2-1-3	CTtaatttaatacACtCAT	9_61	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	2-9-2-4-2	CTtaatttaaTCactcAT	9_62	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	2-9-2-3-3	CTtaatttaaTCactCAT	9_63	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	2-9-2-2-4	CTtaatttaaTCacTCAT	9_64	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	2-9-2-1-1-2-2	CTtaatttaaTCaCtcAT	9_65	12060	A
9	ctttaatttaatacactcat	2-9-2-1-1-1-3	CTtaatttaaTCaCtCAT	9_66	12060	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
9	ctttaatttaatactcat	2-9-3-3-2	CTttaatttaaTCActcAT	9_67	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-9-3-2-3	CTttaatttaaTCActCAT	9_68	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-9-4-2-2	CTttaatttaaTCActcAT	9_69	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-4-1-9-3	CTttaaTttaatactcatCAT	9_70	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-4-1-8-4	CTttaaTttaatactcTCAT	9_71	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-4-1-7-1-2-2	CTttaaTttaatcaCtcAT	9_72	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-4-1-7-1-1-3	CTttaaTttaatcaCtCAT	9_73	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-4-1-6-1-2-3	CTttaaTttaatcActCAT	9_74	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-4-1-6-1-1-4	CTttaaTttaatcAcTCAT	9_75	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-4-1-6-2-2-2	CTttaaTttaatcACtcAT	9_76	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-4-1-6-2-1-3	CTttaaTttaatcACtCAT	9_77	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-2-1-11-3	CTtAatttaatactcatCAT	9_78	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-2-1-10-4	CTtAatttaatactcTCAT	9_79	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-2-1-9-1-1-3	CTtAatttaatcaCtCAT	9_80	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-2-1-1-1-8-4	CTtAaTttaatactcTCAT	9_81	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-2-2-9-4	CTtAAtttaatactcTCAT	9_82	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-2-3-8-4	CTtAATttaatactcTCAT	9_83	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-1-10-1-2-2	CTtTaatttaatcaCtcAT	9_84	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-1-10-1-1-3	CTtTaatttaatcaCtCAT	9_85	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-1-1-1-9-4	CTtTaAtttaatactcTCAT	9_86	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-1-1-2-10-2	CTtTaATttaatactcAT	9_87	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-2-11-3	CTtTAatttaatactcatCAT	9_88	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-2-10-4	CTtTAatttaatactcTCAT	9_89	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-2-9-1-2-2	CTtTAatttaatcaCtcAT	9_90	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-2-9-1-1-3	CTtTAatttaatcaCtCAT	9_91	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-2-1-1-10-2	CTtTAaTttaatactcAT	9_92	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-3-11-2	CTtTAAtttaatactcAT	9_93	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-3-9-4	CTtTAAtttaatactcTCAT	9_94	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	2-1-4-10-2	CTtTAAtttaatactcAT	9_95	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	3-2-2-10-2	CTTtaATttaatactcAT	9_96	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	3-1-1-11-3	CTTtAatttaatactcatCAT	9_97	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	3-1-1-10-4	CTTtAatttaatactcTCAT	9_98	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	3-1-1-9-1-2-2	CTTtAatttaatcaCtcAT	9_99	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	3-1-1-9-1-1-3	CTTtAatttaatcaCtCAT	9_100	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	3-1-2-9-4	CTTtAAtttaatactcTCAT	9_101	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	3-1-3-10-2	CTTtAATttaatactcAT	9_102	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	4-11-4	CTTTaatttaatactcTCAT	9_103	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	4-10-1-1-3	CTTTaatttaatcaCtCAT	9_104	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	4-2-1-10-2	CTTTaaTttaatactcAT	9_105	12060	A
9	ctttaatttaatactcat	4-1-1-9-4	CTTTaAtttaatactcTCAT	9_106	12060	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
10	gctttaatttaacactcat	1-11-1-2-1-1-3	GctttaatttaaTcaCtCAT	10_1	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-11-2-4-2	GctttaatttaaTCactcAT	10_2	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-11-2-3-3	GctttaatttaaTCactCAT	10_3	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-11-2-2-4	GctttaatttaaTCacTCAT	10_4	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-11-2-1-1-2-2	GctttaatttaaTCaCtcAT	10_5	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-11-2-1-1-1-3	GctttaatttaaTCaCtCAT	10_6	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-11-3-3-2	GctttaatttaaTCactcAT	10_7	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-11-4-2-2	GctttaatttaaTCACtcAT	10_8	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-6-1-9-3	GctttaaTttaacactCAT	10_9	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-6-1-8-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_10	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-6-1-7-1-2-2	GctttaaTttaatcaCtcAT	10_11	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-6-1-7-1-1-3	GctttaaTttaatcaCtCAT	10_12	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-6-1-4-1-2-1-1-3	GctttaaTttaaTcaCtCAT	10_13	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-6-1-4-2-3-3	GctttaaTttaaTCactCAT	10_14	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-6-1-4-2-1-1-2-2	GctttaaTttaaTCaCtcAT	10_15	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-6-1-4-3-3-2	GctttaaTttaaTCActcAT	10_16	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-5-1-9-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_17	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-4-1-10-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_18	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-4-1-9-1-1-3	GctttaaTttaatcaCtCAT	10_19	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-4-1-1-1-8-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_20	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-4-2-9-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_21	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-4-3-8-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_22	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-3-1-11-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_23	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-3-1-10-1-2-2	GctttaaTttaatcaCtcAT	10_24	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-3-1-10-1-1-3	GctttaaTttaatcaCtCAT	10_25	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-3-1-2-1-8-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_26	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-3-1-1-1-9-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_27	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-3-2-10-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_28	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-3-2-9-1-2-2	GctttaaTttaatcaCtcAT	10_29	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-3-2-9-1-1-3	GctttaaTttaatcaCtCAT	10_30	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-1-3-1-8-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_31	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-1-2-1-9-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_32	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-1-1-1-10-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_33	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-1-1-1-9-1-2-2	GctttaaTttaatcaCtcAT	10_34	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-1-1-1-9-1-1-3	GctttaaTttaatcaCtCAT	10_35	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-1-1-1-1-8-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_36	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-1-1-2-9-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_37	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-2-11-4	GctttaaTttaacacTCAT	10_38	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-2-10-1-2-2	GctttaaTttaatcaCtcAT	10_39	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-2-10-1-1-3	GctttaaTttaatcaCtCAT	10_40	12060	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
10	gctttaatttaacactcat	1-2-2-1-1-9-4	GcTTaAtttaacacTCAT	10_41	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-2-3-9-1-2-2	GcTTAatttaacacCtcAT	10_42	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-9-2-4-2	GcTttaatttaaTCactcAT	10_43	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-9-2-3-3	GcTttaatttaaTCactCAT	10_44	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-9-2-1-1-2-2	GcTttaatttaaTCaCtcAT	10_45	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-9-3-3-2	GcTttaatttaaTCActcAT	10_46	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-4-1-9-3	GcTttaaTttaacactCAT	10_47	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-4-1-8-4	GcTttaaTttaacacTCAT	10_48	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-4-1-7-1-2-2	GcTttaaTttaacacCtcAT	10_49	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-4-1-7-1-1-3	GcTttaaTttaacacCtCAT	10_50	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-3-1-9-4	GcTttaAtttaacacTCAT	10_51	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-2-1-10-4	GcTtAatttaacacTCAT	10_52	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-2-1-9-1-2-2	GcTtAatttaacacCtcAT	10_53	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-2-1-9-1-1-3	GcTtAatttaacacCtCAT	10_54	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-2-1-1-1-8-4	GcTtAaTttaacacTCAT	10_55	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-2-2-9-4	GcTtAAtttaacacTCAT	10_56	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-1-1-11-4	GcTtTaatttaacacTCAT	10_57	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-1-1-10-1-1-3	GcTtTaatttaacacCtCAT	10_58	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-1-1-2-1-8-4	GcTtTaaTttaacacTCAT	10_59	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-1-1-1-1-9-4	GcTtTaAtttaacacTCAT	10_60	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-1-2-9-1-2-2	GcTtTAatttaacacCtcAT	10_61	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-1-1-3-11-2	GcTtTAAtttaacactcAT	10_62	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-2-3-1-8-4	GcTTtaaTttaacacTCAT	10_63	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-2-2-1-11-2	GcTTtaAtttaacactcAT	10_64	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-2-2-1-9-4	GcTTtaAtttaacacTCAT	10_65	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-2-1-1-10-4	GcTTTaaTttaacacTCAT	10_66	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-2-1-1-9-1-1-3	GcTTTaaTttaacacCtCAT	10_67	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-2-1-2-11-2	GcTTTAatttaacactcAT	10_68	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-3-10-2-1-2	GcTTTaaTttaacacCtCAT	10_69	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	1-1-4-9-1-2-2	GcTTTAatttaacacCtcAT	10_70	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-11-1-4-2	GCtttaatttaacactcAT	10_71	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-10-2-4-2	GCtttaatttaaTCactcAT	10_72	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-5-1-10-2	GCtttaaTttaacactcAT	10_73	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-5-1-9-3	GCtttaaTttaacactCAT	10_74	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-5-1-7-1-2-2	GCtttaaTttaacacCtcAT	10_75	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-4-2-10-2	GCtttaATttaacactcAT	10_76	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-3-1-9-1-2-2	GCtttAatttaacacCtcAT	10_77	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-3-2-11-2	GCtttAAtttaacactcAT	10_78	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-2-1-10-1-2-2	GCttTaatttaacacCtcAT	10_79	12060	A
10	gctttaatttaacactcat	2-2-1-1-1-11-2	GCttTaAtttaacactcAT	10_80	12060	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
10	gctttaatttaactcat	2-2-3-11-2	GCttTAAtttaactcAT	10_81	12060	A
10	gctttaatttaactcat	2-1-1-2-1-11-2	GCtTtaAtttaactcAT	10_82	12060	A
10	gctttaatttaactcat	2-1-1-1-1-9-1-2-2	GCtTtAatttaatcaCtcAT	10_83	12060	A
10	gctttaatttaactcat	2-1-1-1-2-11-2	GCtTtAAtttaactcAT	10_84	12060	A
10	gctttaatttaactcat	3-10-1-4-2	GCTTtaatttaactcAT	10_85	12060	A
10	gctttaatttaactcat	3-4-1-10-2	GCTTtaaTttaactcAT	10_86	12060	A
10	gctttaatttaactcat	3-3-1-11-2	GCTTtaAtttaactcAT	10_87	12060	A
10	gctttaatttaactcat	3-2-2-11-2	GCTTtAAtttaactcAT	10_88	12060	A
10	gctttaatttaactcat	3-1-1-9-1-1-1-1-2	GCTTtAatttaatcAcTcAT	10_89	12060	A
11	ctttaatttaactca	4-10-4	CTTTaatttaatcaCTCA	11_1	12061	A
12	ctttaatttaactc	4-9-4	CTTTaatttaatcACTC	12_1	12062	A
13	tccaagtaatgcctggctt	3-14-3	TCCaagtaatgcctggCTT	13_1	12076	A
14	atccaagtaatgcctggct	3-14-3	ATCcaagtaatgcctgGCT	14_1	12077	A
15	accatccaagtaatgcctg	3-14-3	ACCatccaagtaatgcCTG	15_1	12080	A
16	caccatccaagtaatgcct	3-14-3	CACcatccaagtaatgCCT	16_1	12081	A
17	tacaccatccaagtaatgc	3-14-3	TACaccatccaagtaaTGC	17_1	12083	A
18	ttacaccatccaagtaatg	3-14-3	TTAcaccatccaagtaATG	18_1	12084	A
19	acaccatccaagtaat	3-10-4	ACAccatccaagtCAAT	19_1	12085	A
20	tacaccatccaagtaaa	3-10-4	TACaccatccaagTCAA	20_1	12086	A
21	ttacaccatccaagtca	4-11-2	TTACaccatccaagtCA	21_1	12087	A
22	ttacaccatccaagtc	4-9-3	TTACaccatccaaGTC	22_1	12088	A
23	aattattacaccatccaa	4-9-4	AATAttacaccatCCAA	23_1	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-10-4	AgaaTattacaccatCCAA	24_1	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-9-1-1-3	AgaaTattacaccaTcCAA	24_2	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-9-2-1-2	AgaaTattacaccaTcCAA	24_3	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-8-1-2-3	AgaaTattacaccAtcCAA	24_4	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-8-1-1-4	AgaaTattacaccAtCCAA	24_5	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-8-2-1-3	AgaaTattacaccATcCAA	24_6	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-8-3-1-2	AgaaTattacaccATCcAA	24_7	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-7-1-1-2-1-2	AgaaTattacacCaTCcAA	24_8	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-6-1-1-1-1-1-1-2	AgaaTattacaCcAtCcAA	24_9	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-3-1-6-1-1-2-1-3	AgaaTattacaCcATcCAA	24_10	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-2-1-11-4	AgaAtattacaccatCCAA	24_11	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-2-1-10-1-1-3	AgaAtattacaccaTcCAA	24_12	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-2-2-11-3	AgaATattacaccatcCAA	24_13	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-2-2-9-2-1-2	AgaATattacaccaTcCAA	24_14	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-2-2-8-1-2-3	AgaATattacaccAtcCAA	24_15	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-2-2-8-1-1-1-1-2	AgaATattacaccAtCcAA	24_16	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-2-2-8-3-1-2	AgaATattacaccATCcAA	24_17	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-2-2-7-2-1-1-1-2	AgaATattacacCATCcAA	24_18	12091	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-10-1-1-4	AgAatattacaccAtCCAA	24_19	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-10-3-1-2	AgAatattacaccATCcAA	24_20	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-1-1-11-3	AgAaTattacaccatcCAA	24_21	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-1-1-9-2-1-2	AgAaTattacaccaTCcAA	24_22	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-1-1-8-1-2-3	AgAaTattacaccAtcCAA	24_23	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-1-1-8-1-1-1-1-2	AgAaTattacaccAtCcAA	24_24	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-1-1-8-3-1-2	AgAaTattacaccATCcAA	24_25	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-1-1-7-1-3-3	AgAaTattacacCatcCAA	24_26	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-1-1-6-1-4-3	AgAaTattacaCcatcCAA	24_27	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-1-1-2-6-2-3-2	AgAaTattacacCATccAA	24_28	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-2-10-2-1-2	AgAATattacaccaTCcAA	24_29	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-3-11-3	AgAATattacaccatcCAA	24_30	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-3-10-1-1-2	AgAATattacaccatCcAA	24_31	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-3-9-2-1-2	AgAATattacaccaTCcAA	24_32	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-3-8-1-2-3	AgAATattacaccAtcCAA	24_33	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-3-8-1-1-1-1-2	AgAATattacaccAtCcAA	24_34	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	1-1-3-7-1-1-2-1-2	AgAATattacacCaTCcAA	24_35	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-3-1-8-2-1-2	AGaatAttacaccaTCcAA	24_36	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-3-1-6-1-3-3	AGaatAttacacCatcCAA	24_37	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-2-1-11-3	AGaaTattacaccatcCAA	24_38	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-2-1-10-1-1-2	AGaaTattacaccatCcAA	24_39	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-2-1-9-2-1-2	AGaaTattacaccaTCcAA	24_40	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-2-1-8-1-2-3	AGaaTattacaccAtcCAA	24_41	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-2-1-8-1-1-1-1-2	AGaaTattacaccAtCcAA	24_42	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-2-1-8-3-1-2	AGaaTattacaccATCcAA	24_43	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-2-1-6-1-1-1-1-1-1-2	AGaaTattacaCcAtCcAA	24_44	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-2-2-6-1-2-1-1-2	AGaaTattacacCatCcAA	24_45	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-1-1-10-2-1-2	AGaAtattacaccaTCcAA	24_46	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-1-1-1-1-6-1-1-2-1-2	AGaAtAttacacCaTCcAA	24_47	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-1-2-11-3	AGaATattacaccatcCAA	24_48	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-1-2-10-1-1-2	AGaATattacaccatCcAA	24_49	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-1-2-9-2-1-2	AGaATattacaccaTCcAA	24_50	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-1-2-8-1-2-3	AGaATattacaccAtcCAA	24_51	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-1-2-8-1-1-1-1-2	AGaATattacaccAtCcAA	24_52	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	2-1-3-9-1-1-2	AGaATAttacaccatCcAA	24_53	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	3-11-2-1-2	AGAatattacaccaTCcAA	24_54	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	3-10-1-2-3	AGAatattacaccAtcCAA	24_55	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	3-10-1-1-1-1-2	AGAatattacaccAtCcAA	24_56	12091	A
24	agaatattacaccatccaa	3-1-1-10-1-1-2	AGAAatattacaccatCcAA	24_57	12091	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
24	agaatattacacccatccaa	3-1-1-8-1-3-2	AGAA TattacaccAtccAA	24_58	12091	A
24	agaatattacacccatccaa	3-1-1-8-1-1-1-1-2	AGAA TattacaccAtCcAA	24_59	12091	A
24	agaatattacacccatccaa	4-11-1-1-2	AGAA tattacaccatCcAA	24_60	12091	A
24	agaatattacacccatccaa	4-8-1-4-2	AGAA tattacacCatccAA	24_61	12091	A
24	agaatattacacccatccaa	4-1-1-9-1-1-2	AGAA tAttacaccatCcAA	24_62	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-4-1-9-1-1-3	Cagaa TattacaccaTcCAA	25_1	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-4-1-9-2-1-2	Cagaa TattacaccaTCcAA	25_2	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-4-1-7-1-2-1-1-2	Cagaa TattacacCatCcAA	25_3	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-4-1-6-1-1-1-1-1-1-2	Cagaa TattacaCcAtCcAA	25_4	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-3-1-10-2-1-2	CagaAtattacaccaTCcAA	25_5	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-3-1-7-2-4-2	CagaAtattacaCCatccAA	25_6	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-3-1-1-1-6-2-3-2	CagaAtAttacacCATccAA	25_7	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-3-2-11-3	CagaATattacaccatcCAA	25_8	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-3-2-10-1-1-2	CagaATattacaccatCcAA	25_9	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-3-2-9-2-1-2	CagaATattacaccaTCcAA	25_10	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-3-2-8-1-1-1-1-2	CagaATattacaccAtCcAA	25_11	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-1-11-2-1-2	CagAatattacaccaTCcAA	25_12	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-1-10-1-2-3	CagAatattacaccAtcCAA	25_13	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-1-2-1-6-1-1-2-1-2	CagAatAttacacCaTCcAA	25_14	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-1-1-1-11-3	CagAaTattacaccatcCAA	25_15	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-1-1-1-9-2-1-2	CagAaTattacaccaTCcAA	25_16	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-1-1-1-8-1-2-3	CagAaTattacaccAtcCAA	25_17	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-1-1-1-8-1-1-1-1-2	CagAaTattacaccAtCcAA	25_18	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-1-1-1-7-1-1-2-1-2	CagAaTattacacCaTCcAA	25_19	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-1-1-2-6-1-2-1-1-2	CagAaTAttacacCatCcAA	25_20	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-2-8-2-3-2	CagAA tattacacCATccAA	25_21	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-2-2-8-2-1-1-1-2	CagAA tattacacCatCcAA	25_22	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-2-1-11-3	CaGaa TattacaccatcCAA	25_23	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-2-1-10-1-1-2	CaGaa TattacaccatCcAA	25_24	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-2-1-9-2-1-2	CaGaa TattacaccaTCcAA	25_25	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-2-1-8-1-2-3	CaGaa TattacaccAtcCAA	25_26	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-2-1-8-1-1-1-1-2	CaGaa TattacaccAtCcAA	25_27	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-2-1-6-1-5-2	CaGaa TattacaCcatccAA	25_28	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-1-1-11-1-1-2	CaGaAtattacaccatCcAA	25_29	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-1-1-10-2-1-2	CaGaAtattacaccaTCcAA	25_30	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-1-1-1-1-9-1-1-2	CaGaAtAttacaccatCcAA	25_31	12091	A
25	cagaatattacacccatccaa	1-1-1-1-1-1-1-6-2-	CaGaAtAttacacCATccAA	25_32	12091	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
		3-2				
25	cagaatattacaccatccaa	1-1-2-10-1-1-1-1-2	CaGAatattacaccAtCcAA	25_33	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	1-1-2-8-1-1-1-3-2	CaGAatattacaCcAtccAA	25_34	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	2-3-1-10-1-1-2	CAGaaTattacaccatCcAA	25_35	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	2-3-1-8-1-3-2	CAGaaTattacaccAtccAA	25_36	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	2-3-1-8-1-1-1-1-2	CAGaaTattacaccAtCcAA	25_37	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	2-2-1-11-1-1-2	CAGaAtattacaccatCcAA	25_38	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	2-1-1-10-1-3-2	CAGaAtattacaccAtccAA	25_39	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	2-1-1-10-1-1-1-1-2	CAGaAtattacaccAtCcAA	25_40	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	2-1-1-1-1-8-1-3-2	CAGaATattacaccAtccAA	25_41	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	2-1-1-1-1-7-1-4-2	CAGaATattacacCatccAA	25_42	12091	A
25	cagaatattacaccatccaa	2-1-2-11-1-1-2	CAGAAAtattacaccatCcAA	25_43	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-10-2-1-4	GaatattacacCATCCAA	26_1	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-10-3-1-3	GaatattacacCATcCAA	26_2	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-10-4-1-2	GaatattacacCATCcAA	26_3	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-3-1-9-4	GaatAttacaccatCCAA	26_4	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-2-1-10-4	GaaTattacaccatCCAA	26_5	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-2-1-8-1-1-4	GaaTattacaccAtCCAA	26_6	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-2-2-6-2-1-1-1-2	GaaTATTacacCATCcAA	26_7	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-1-1-11-4	GaAtattacaccatCCAA	26_8	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-1-1-1-1-9-4	GaAtAttacaccatCCAA	26_9	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-1-1-1-1-6-4-1-2	GaAtAttacacCATCcAA	26_10	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-1-2-10-4	GaATattacaccatCCAA	26_11	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-1-2-9-2-1-2	GaATattacaccaTCcAA	26_12	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-1-2-8-1-1-4	GaATattacaccAtCCAA	26_13	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-1-2-8-3-1-2	GaATattacaccATCcAA	26_14	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	1-1-2-7-2-2-3	GaATattacacCATcCAA	26_15	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-10-1-1-4	GAatattacaccAtCCAA	26_16	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-10-3-1-2	GAatattacaccATCcAA	26_17	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-9-4-1-2	GAatattacacCATCcAA	26_18	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-2-1-6-4-1-2	GAatAttacacCATCcAA	26_19	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-1-1-11-3	GAAAtattacaccatcCAA	26_20	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-1-1-9-2-1-2	GAAAtattacaccaTCcAA	26_21	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-1-1-8-1-2-3	GAAAtattacaccAtcCAA	26_22	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-1-1-8-3-1-2	GAAAtattacaccATCcAA	26_23	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-1-1-7-1-3-3	GAAAtattacacCatcCAA	26_24	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	2-1-1-7-2-3-2	GAAAtattacacCATccAA	26_25	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	3-11-4	GAAAtattacaccatCCAA	26_26	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	3-10-2-1-2	GAAAtattacaccaTCcAA	26_27	12091	A
26	gaatattacaccatccaa	3-8-2-1-1-1-2	GAAAtattacacCATCcAA	26_28	12091	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
26	gaatattacaccatcaa	4-11-3	GAATattacaccatcCAA	26_29	12091	A
26	gaatattacaccatcaa	4-8-1-2-3	GAATattacaccAtcCAA	26_30	12091	A
26	gaatattacaccatcaa	4-7-1-1-2-1-2	GAATattacacCaTCcAA	26_31	12091	A
27	aatattacaccatcca	4-8-4	AATAttacaccaTCCA	27_1	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-3-1-10-3	AgaaTattacaccatCCA	28_1	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-3-1-9-1-1-2	AgaaTattacaccaTcCA	28_2	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-3-1-8-1-1-3	AgaaTattacaccAtCCA	28_3	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-3-1-8-2-1-2	AgaaTattacaccATcCA	28_4	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-2-1-11-3	AgaAtattacaccatCCA	28_5	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-2-1-10-4	AgaAtattacaccaTCCA	28_6	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-2-1-1-1-8-1-1-2	AgaAtAttacaccaTcCA	28_7	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-2-1-1-1-6-1-3-2	AgaAtAttacacCatcCA	28_8	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-2-2-11-2	AgaATattacaccatcCA	28_9	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-2-2-8-1-2-2	AgaATattacaccAtcCA	28_10	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-11-4	AgAatattacaccaTCCA	28_11	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-10-1-1-3	AgAatattacaccAtCCA	28_12	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-9-2-2-2	AgAatattacacCAtcCA	28_13	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-2-1-6-1-3-2	AgAatAttacacCatcCA	28_14	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-2-1-6-1-2-3	AgAatAttacacCatCCA	28_15	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-1-1-11-2	AgAaTattacaccatcCA	28_16	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-1-1-10-3	AgAaTattacaccatCCA	28_17	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-1-1-8-1-2-2	AgAaTattacaccAtcCA	28_18	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-1-1-8-1-1-3	AgAaTattacaccAtCCA	28_19	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-1-1-7-1-3-2	AgAaTattacacCatcCA	28_20	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-1-1-6-1-4-2	AgAaTattacaCcatcCA	28_21	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-1-1-2-6-1-3-2	AgAaTattacacCatcCA	28_22	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-2-11-3	AgAATattacaccatCCA	28_23	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-3-11-2	AgAATattacaccatcCA	28_24	12092	A
28	agaatattacaccatcca	1-1-3-8-1-2-2	AgAATattacaccAtcCA	28_25	12092	A
28	agaatattacaccatcca	2-2-1-11-2	AGaaTattacaccatcCA	28_26	12092	A
28	agaatattacaccatcca	2-2-1-8-1-2-2	AGaaTattacaccAtcCA	28_27	12092	A
28	agaatattacaccatcca	2-1-1-11-3	AGaAtattacaccatCCA	28_28	12092	A
28	agaatattacaccatcca	2-1-2-11-2	AGaATattacaccatcCA	28_29	12092	A
28	agaatattacaccatcca	2-1-2-8-1-2-2	AGaATattacaccAtcCA	28_30	12092	A
28	agaatattacaccatcca	3-10-1-2-2	AGAatattacaccAtcCA	28_31	12092	A
28	agaatattacaccatcca	3-1-1-11-2	AGAaTattacaccatcCA	28_32	12092	A
28	agaatattacaccatcca	3-1-1-8-1-2-2	AGAaTattacaccAtcCA	28_33	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-4-1-9-1-1-2	CagaaTattacaccaTcCA	29_1	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-3-1-11-3	CagaAtattacaccatCCA	29_2	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-3-1-7-1-4-2	CagaAtattacaCcatcCA	29_3	12092	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
29	cagaatattacaccatcca	1-3-2-11-2	CagaATattacaccatcCA	29_4	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-3-2-8-1-2-2	CagaATattacaccAtcCA	29_5	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-3-2-7-1-3-2	CagaATattacacCatcCA	29_6	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-2-1-1-1-11-2	CagAaTattacaccatcCA	29_7	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-2-1-1-1-8-1-2-2	CagAaTattacaccAtcCA	29_8	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-2-3-11-2	CagAATattacaccatcCA	29_9	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-1-1-2-1-11-2	CaGaaTattacaccatcCA	29_10	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-1-1-2-1-8-1-2-2	CaGaaTattacaccAtcCA	29_11	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	1-1-2-10-1-2-2	CaGAatattacaccAtcCA	29_12	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	2-1-1-10-1-2-2	CAGaattattacaccAtcCA	29_13	12092	A
29	cagaatattacaccatcca	2-1-1-7-1-2-1-2-2	CAGaattattacAccAtcCA	29_14	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-10-2-1-3	GaatattacacCAtCCA	30_1	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-3-1-8-4	GaatAttacaccaTCCA	30_2	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-2-1-10-3	GaaTattacaccatCCA	30_3	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-2-1-8-1-1-3	GaaTattacaccAtCCA	30_4	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-1-1-11-3	GaAtattacaccatCCA	30_5	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-1-1-10-4	GaAtattacaccaTCCA	30_6	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-1-1-8-2-1-3	GaAtattacacCAtCCA	30_7	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-1-1-7-2-3-2	GaAtattacaCCatcCA	30_8	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-1-1-1-1-6-3-1-2	GaAtAttacacCATcCA	30_9	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-1-2-10-3	GaATattacaccatCCA	30_10	12092	A
30	gaatattacaccatcca	1-1-2-8-1-1-3	GaATattacaccAtCCA	30_11	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-11-4	GAatattacaccaTCCA	30_12	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-10-1-1-3	GAatattacaccAtCCA	30_13	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-2-1-9-3	GAatAttacaccatCCA	30_14	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-2-1-6-1-3-2	GAatAttacacCatcCA	30_15	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-1-1-11-2	GAaTattacaccatcCA	30_16	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-1-1-10-3	GAaTattacaccatCCA	30_17	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-1-1-8-1-2-2	GAaTattacaccAtcCA	30_18	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-1-1-8-1-1-3	GAaTattacaccAtCCA	30_19	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-1-1-7-2-2-2	GAaTattacacCAtcCA	30_20	12092	A
30	gaatattacaccatcca	2-1-1-6-1-4-2	GAaTattacaCcatcCA	30_21	12092	A
30	gaatattacaccatcca	3-11-3	GAAtattacaccatCCA	30_22	12092	A
30	gaatattacaccatcca	3-8-1-3-2	GAAtattacacCatcCA	30_23	12092	A
30	gaatattacaccatcca	4-11-2	GAATattacaccatcCA	30_24	12092	A
30	gaatattacaccatcca	4-8-1-2-2	GAATattacaccAtcCA	30_25	12092	A
31	tcagaatattacaccatcca	1-1-1-3-1-11-2	TcAgaaTattacaccatcCA	31_1	12092	A
31	tcagaatattacaccatcca	1-1-1-3-1-8-1-2-2	TcAgaaTattacaccAtcCA	31_2	12092	A
31	tcagaatattacaccatcca	1-1-1-2-1-10-1-1-2	TcAgaAtattacaccaTcCA	31_3	12092	A
32	agaatattacaccatcc	1-3-1-9-3	AgaaTattacaccaTCC	32_1	12093	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
32	agaatattacaccatcc	1-3-1-8-4	AgaaTattacaccATCC	32_2	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-3-2-6-1-2-2	AgaaTattacacCatCC	32_3	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-2-1-10-3	AgaAtattacaccaTCC	32_4	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-2-1-6-2-1-1-1-2	AgaAtattacACcAtCC	32_5	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-2-1-1-1-6-1-2-2	AgaAtAttacacCatCC	32_6	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-2-2-9-3	AgaATattacaccaTCC	32_7	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-2-2-8-1-1-2	AgaATattacaccAtCC	32_8	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-2-2-8-4	AgaATattacaccATCC	32_9	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-11-3	AgAatattacaccaTCC	32_10	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-10-4	AgAatattacaccATCC	32_11	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-8-1-1-1-1-2	AgAatattacaCcAtCC	32_12	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-8-1-1-4	AgAatattacaCcATCC	32_13	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-7-1-3-3	AgAatattacAccaTCC	32_14	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-7-2-3-2	AgAatattacACcatCC	32_15	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-7-3-2-2	AgAatattacACCatCC	32_16	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-1-1-9-3	AgAaTattacaccaTCC	32_17	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-1-1-8-1-1-2	AgAaTattacaccAtCC	32_18	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-1-1-8-4	AgAaTattacaccATCC	32_19	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-1-1-7-1-2-2	AgAaTattacacCatCC	32_20	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-1-1-1-6-1-1-1-1-2	AgAaTattacaCcAtCC	32_21	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-2-10-3	AgAAatattacaccaTCC	32_22	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-2-7-2-2-2	AgAAatattacaCCatCC	32_23	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-2-6-1-1-2-1-2	AgAAatattacAcCatCC	32_24	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-3-10-2	AgAATattacaccatCC	32_25	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-3-9-3	AgAATattacaccaTCC	32_26	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-3-8-1-1-2	AgAATattacaccAtCC	32_27	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-3-8-4	AgAATattacaccATCC	32_28	12093	A
32	agaatattacaccatcc	1-1-3-6-1-1-1-1-2	AgAATattacaCcAtCC	32_29	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-2-1-10-2	AGaaTattacaccatCC	32_30	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-2-1-9-3	AGaaTattacaccaTCC	32_31	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-2-1-8-1-1-2	AGaaTattacaccAtCC	32_32	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-2-1-8-4	AGaaTattacaccATCC	32_33	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-1-1-11-2	AGaAtattacaccatCC	32_34	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-1-1-10-3	AGaAtattacaccaTCC	32_35	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-1-1-8-1-1-3	AGaAtattacacCaTCC	32_36	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-1-1-6-1-2-4	AGaAtattacAccATCC	32_37	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-1-2-10-2	AGaATattacaccatCC	32_38	12093	A
32	agaatattacaccatcc	2-1-2-8-1-1-2	AGaATattacaccAtCC	32_39	12093	A
32	agaatattacaccatcc	3-11-3	AGAatattacaccaTCC	32_40	12093	A
32	agaatattacaccatcc	3-10-1-1-2	AGAatattacaccAtCC	32_41	12093	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
32	agaatattacaccatcc	3-7-1-3-3	AGAatattacAccaTCC	32_42	12093	A
32	agaatattacaccatcc	3-7-1-2-1-1-2	AGAatattacAccAtCC	32_43	12093	A
32	agaatattacaccatcc	3-7-1-1-1-2-2	AGAatattacAcCatCC	32_44	12093	A
32	agaatattacaccatcc	3-2-1-9-2	AGAatAttacaccatCC	32_45	12093	A
32	agaatattacaccatcc	3-1-1-10-2	AGAAtattacaccatCC	32_46	12093	A
32	agaatattacaccatcc	3-1-1-8-1-1-2	AGAAtattacaccAtCC	32_47	12093	A
32	agaatattacaccatcc	4-11-2	AGAAtattacaccatCC	32_48	12093	A
32	agaatattacaccatcc	4-10-3	AGAAtattacaccaTCC	32_49	12093	A
32	agaatattacaccatcc	4-8-1-2-2	AGAAtattacacCatCC	32_50	12093	A
32	agaatattacaccatcc	4-6-1-1-1-2-2	AGAAtattacAcCatCC	32_51	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-4-1-9-3	CagaaTattacaccaTCC	33_1	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-3-1-10-3	CagaAtattacaccaTCC	33_2	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-3-1-7-1-2-3	CagaAtattacaCcaTCC	33_3	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-3-1-6-1-3-3	CagaAtattacAccaTCC	33_4	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-3-1-6-2-3-2	CagaAtattacACcatCC	33_5	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-3-2-10-2	CagaATattacaccatCC	33_6	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-3-2-9-3	CagaATattacaccaTCC	33_7	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-3-2-8-1-1-2	CagaATattacaccAtCC	33_8	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-2-1-11-3	CagAatattacaccaTCC	33_9	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-2-1-2-1-8-3	CagAatAttacaccaTCC	33_10	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-2-1-1-1-9-3	CagAaTattacaccaTCC	33_11	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-2-2-10-3	CagAATattacaccaTCC	33_12	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-2-2-8-1-1-3	CagAATattacacCaTCC	33_13	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-2-3-6-1-3-2	CagAATattacaCcatCC	33_14	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-1-1-3-1-6-2-1-2	CaGaatAttacacCAtCC	33_15	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-1-1-2-1-8-1-1-2	CaGaaTattacaccAtCC	33_16	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-1-1-1-1-11-2	CaGaAtattacaccatCC	33_17	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-1-1-1-1-10-3	CaGaAtattacaccaTCC	33_18	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-1-1-1-1-7-1-3-2	CaGaAtattacaCcatCC	33_19	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-1-1-1-1-6-2-1-1-1-2	CaGaAtattacACcAtCC	33_20	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	1-1-2-10-1-1-2	CaGAatattacaccAtCC	33_21	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	2-3-1-10-2	CAGaaTattacaccatCC	33_22	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	2-3-1-8-1-1-2	CAGaaTattacaccAtCC	33_23	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	2-2-1-11-2	CAGaAtattacaccatCC	33_24	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	2-2-1-10-3	CAGaAtattacaccaTCC	33_25	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	2-2-1-1-1-6-1-2-2	CAGaAtAttacacCatCC	33_26	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	2-1-1-11-3	CAGaAtattacaccaTCC	33_27	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	2-1-1-10-1-1-2	CAGaAtattacaccAtCC	33_28	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	2-1-1-1-1-10-2	CAGAaTattacaccatCC	33_29	12093	A
33	cagaatattacaccatcc	2-1-1-1-1-8-1-1-2	CAGAaTattacaccAtCC	33_30	12093	A

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
33	cagaatattacacccatcc	2-1-2-11-2	CAGAAattacacccatCC	33_31	12093	A
33	cagaatattacacccatcc	2-1-2-6-1-4-2	CAGAAattacAccatCC	33_32	12093	A
33	cagaatattacacccatcc	3-1-1-11-2	CAGaAtattacacccatCC	33_33	12093	A
34	gaatattacacccatcc	4-8-4	GAATattacaccATCC	34_1	12093	A
35	tcagaatattacacccatcc	2-4-1-10-2	TCagaaTattacacccatCC	35_1	12093	A
35	tcagaatattacacccatcc	2-3-1-11-2	TCagaAtattacacccatCC	35_2	12093	A
35	tcagaatattacacccatcc	2-3-1-6-1-4-2	TCagaAtattacAccatCC	35_3	12093	A
36	agaatattacacccatc	4-8-4	AGAAattacacCATC	36_1	12094	A
37	cagaatattacacccat	4-8-4	CAGAatattacaCCAT	37_1	12095	A
38	caattctcatttcaacctc	2-14-4	CAattctcatttcaacCTTC	38_1	39562	B
39	tcaattctcatttcaacctt	2-15-3	TCaattctcatttcaacCTT	39_1	39563	B
40	atcaattctcatttcaacct	3-15-2	ATCaattctcatttcaacCT	40_1	39564	B
41	aatcaattctcatttcaacc	4-13-3	AATCaattctcatttcaACC	41_1	39565	B
42	aaatcaattctcatttcaac	4-12-4	AAATcaattctcatttCAAC	42_1	39566	B
43	caaatcaattctcatttcaa	4-12-4	CAAAatcaattctcattTCAA	43_1	39567	B
44	tcaaatcaattctcatttca	3-13-4	TCAaatcaattctcatTTCA	44_1	39568	B
45	ctcaaatcaattctcatttc	4-13-3	CTCAaatcaattctcatTTC	45_1	39569	B
46	actcaaatcaattctcattt	4-12-4	ACTCaaatcaattctcATTT	46_1	39570	B
47	aactcaaatcaattctcatt	4-12-4	AACTcaaatcaattctCATT	47_1	39571	B
48	taactcaaatcaattctcat	4-12-4	TAACTcaaatcaattcTCAT	48_1	39572	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-5-1-10-3	TtaactCaaatcaattcTCA	49_1	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-5-2-10-2	TtaactCAaatcaattctCA	49_2	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-5-2-9-3	TtaactCAaatcaattcTCA	49_3	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-4-2-11-2	TtaacTCAaatcaattctCA	49_4	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-4-3-10-2	TtaacTCAaatcaattctCA	49_5	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-11-1-1-2	TtaaCtcaaatcaattCtCA	49_6	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-11-4	TtaaCtcaaatcaattCTCA	49_7	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-10-2-1-2	TtaaCtcaaatcaatTCtCA	49_8	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-9-1-3-2	TtaaCtcaaatcaaTtctCA	49_9	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-9-1-2-3	TtaaCtcaaatcaaTtcTCA	49_10	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-9-1-1-1-1-2	TtaaCtcaaatcaaTtCtCA	49_11	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-9-1-1-4	TtaaCtcaaatcaaTtCTCA	49_12	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-9-3-1-2	TtaaCtcaaatcaaTTCtCA	49_13	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-7-1-4-3	TtaaCtcaaatcAattcTCA	49_14	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-9-3	TtaaCtcAaatcaattcTCA	49_15	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-8-1-1-2	TtaaCtcAaatcaattCtCA	49_16	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-8-4	TtaaCtcAaatcaattCTCA	49_17	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-7-1-2-2	TtaaCtcAaatcaatTctCA	49_18	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-7-2-1-2	TtaaCtcAaatcaatTCtCA	49_19	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-6-1-3-2	TtaaCtcAaatcaaTtctCA	49_20	39573	B

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-6-1-2-3	TtaaCtcAaatcaaTtcTCA	49_21	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-6-1-1-1-2	TtaaCtcAaatcaaTtCtCA	49_22	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-6-1-1-4	TtaaCtcAaatcaaTtCTCA	49_23	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-2-1-6-3-1-2	TtaaCtcAaatcaaTTcTCA	49_24	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-1-11-2	TtaaCtCaaatcaattctCA	49_25	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-1-10-3	TtaaCtCaaatcaattcTCA	49_26	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-1-9-1-1-2	TtaaCtCaaatcaattCtCA	49_27	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-1-9-4	TtaaCtCaaatcaattCTCA	49_28	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-1-8-2-1-2	TtaaCtCaaatcaattCtCA	49_29	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-2-10-2	TtaaCtCAaatcaattctCA	49_30	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-2-9-3	TtaaCtCAaatcaattcTCA	49_31	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-2-8-1-1-2	TtaaCtCAaatcaattCtCA	49_32	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-2-6-1-3-2	TtaaCtCAaatcaaTtctCA	49_33	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-1-1-2-6-1-1-1-2	TtaaCtCAaatcaaTtCtCA	49_34	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-3-11-2	TtaaCTCaaatcaattctCA	49_35	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-3-9-1-1-2	TtaaCTCaaatcaattCtCA	49_36	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-4-10-2	TtaaCTCAaatcaattctCA	49_37	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-3-4-6-1-3-2	TtaaCTCAaatcaaTtctCA	49_38	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-11-2-1-2	TtaActcaaatcaatTcTCA	49_39	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-10-1-1-1-1-2	TtaActcaaatcaaTtCtCA	49_40	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-10-1-1-4	TtaActcaaatcaaTtCTCA	49_41	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-3-1-8-1-1-2	TtaActcAaatcaattCtCA	49_42	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-3-1-7-2-1-2	TtaActcAaatcaatTcTCA	49_43	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-3-1-6-1-2-3	TtaActcAaatcaaTtcTCA	49_44	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-3-1-6-1-1-1-2	TtaActcAaatcaaTtCtCA	49_45	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-2-1-9-1-1-2	TtaActCaaatcaattCtCA	49_46	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-2-1-9-4	TtaActCaaatcaattCTCA	49_47	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-2-1-8-2-1-2	TtaActCaaatcaatTcTCA	49_48	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-2-2-10-2	TtaActCAaatcaattctCA	49_49	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-2-2-8-1-1-2	TtaActCAaatcaattCtCA	49_50	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-2-2-8-4	TtaActCAaatcaattCTCA	49_51	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-2-2-7-2-1-2	TtaActCAaatcaatTcTCA	49_52	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-2-2-6-1-3-2	TtaActCAaatcaaTtctCA	49_53	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-2-2-6-1-1-1-2	TtaActCAaatcaaTtCtCA	49_54	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-1-1-2-9-1-1-2	TtaAcTCaaatcaattCtCA	49_55	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-11-1-1-2	TtaActcaaatcaattCtCA	49_56	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-11-4	TtaAcTcaaatcaattCTCA	49_57	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-10-2-1-2	TtaAcTcaaatcaatTcTCA	49_58	39573	B

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-9-1-3-2	TtaACtcaaatcaaTtctCA	49_59	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-9-1-1-1-1-2	TtaACtcaaatcaaTtCtCA	49_60	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-9-1-1-4	TtaACtcaaatcaaTtCTCA	49_61	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-9-3-1-2	TtaACtcaaatcaaTTcTCA	49_62	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-7-1-5-2	TtaACtcaaatcAattctCA	49_63	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-2-1-10-2	TtaACtCAaatcaattctCA	49_64	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-2-1-8-1-1-2	TtaACtCAaatcaattCtCA	49_65	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-2-1-8-4	TtaACtCAaatcaattCTCA	49_66	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-2-1-7-2-1-2	TtaACtCAaatcaatTcTCA	49_67	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-2-1-6-1-3-2	TtaACtCAaatcaaTtctCA	49_68	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-2-1-6-1-1-1-1-2	TtaACtCAaatcaaTtCtCA	49_69	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-2-1-6-1-1-4	TtaACtCAaatcaaTtCTCA	49_70	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-2-1-6-3-1-2	TtaACtCAaatcaaTTcTCA	49_71	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-1-1-11-2	TtaACtCAaatcaattctCA	49_72	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-1-1-9-1-1-2	TtaACtCAaatcaattCtCA	49_73	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-1-1-9-4	TtaACtCAaatcaattCTCA	49_74	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-1-1-8-2-1-2	TtaACtCAaatcaatTcTCA	49_75	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-1-2-10-2	TtaACtCAaatcaattctCA	49_76	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-1-2-8-1-1-2	TtaACtCAaatcaattCtCA	49_77	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-2-1-2-6-1-3-2	TtaACtCAaatcaaTtctCA	49_78	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-2-4-9-1-1-2	TtaACTCaaatcaattCtCA	49_79	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-11-1-1-1-1-2	TtAactcaaatcaaTtCtCA	49_80	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-10-1-2-1-1-2	TtAactcaaatcaAttCtCA	49_81	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-10-1-1-2-1-2	TtAactcaaatcaAtTcTCA	49_82	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-10-2-1-1-1-2	TtAactcaaatcaATtCtCA	49_83	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-10-4-1-2	TtAactcaaatcaATTcTCA	49_84	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-4-1-7-2-1-2	TtAactCAaatcaatTcTCA	49_85	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-4-1-6-1-1-1-1-2	TtAactCAaatcaaTtCtCA	49_86	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-3-1-9-1-1-2	TtAactCAaatcaattCtCA	49_87	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-3-1-9-4	TtAactCAaatcaattCTCA	49_88	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-3-1-8-2-1-2	TtAactCAaatcaatTcTCA	49_89	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-3-2-8-1-1-2	TtAactCAaatcaattCtCA	49_90	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-3-2-7-2-1-2	TtAactCAaatcaatTcTCA	49_91	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-3-2-6-1-1-1-1-2	TtAactCAaatcaaTtCtCA	49_92	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-3-2-6-3-1-2	TtAactCAaatcaaTTcTCA	49_93	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-11-1-1-2	TtAaCtcaaatcaattCtCA	49_94	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-10-2-1-2	TtAaCtcaaatcaatTcTCA	49_95	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-9-1-3-2	TtAaCtcaaatcaaTtctCA	49_96	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-9-1-1-1-	TtAaCtcaaatcaaTtCtCA	49_97	39573	B

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
		1-2				
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-9-1-1-4	TtAaCtcaaatcaaTtCTCA	49_98	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-9-3-1-2	TtAaCtcaaatcaaTTCtCA	49_99	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-7-1-5-2	TtAaCtcaaatcAattctCA	49_100	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-2-1-10-2	TtAaCtCAaatcaattctCA	49_101	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-2-1-8-1-1-2	TtAaCtCAaatcaattCtCA	49_102	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-2-1-8-4	TtAaCtCAaatcaattCTCA	49_103	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-2-1-7-2-1-2	TtAaCtCAaatcaatTCtCA	49_104	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-2-1-6-1-3-2	TtAaCtCAaatcaaTtctCA	49_105	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-2-1-6-1-1-1-1-2	TtAaCtCAaatcaaTtCtCA	49_106	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-2-1-6-1-1-4	TtAaCtCAaatcaaTtCTCA	49_107	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-2-1-6-3-1-2	TtAaCtCAaatcaaTTCtCA	49_108	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-1-1-11-2	TtAaCtCAaatcaattctCA	49_109	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-1-1-9-1-1-2	TtAaCtCAaatcaattCtCA	49_110	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-1-1-8-2-1-2	TtAaCtCAaatcaatTCtCA	49_111	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-1-2-10-2	TtAaCtCAaatcaattctCA	49_112	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-1-2-8-1-1-2	TtAaCtCAaatcaattCtCA	49_113	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-1-1-1-1-2-6-1-3-2	TtAaCtCAaatcaaTtctCA	49_114	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-11-2-1-2	TtAActcaaatcaatTCtCA	49_115	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-10-1-1-1-1-2	TtAActcaaatcaaTtCtCA	49_116	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-3-1-8-1-1-2	TtAActCAaatcaattCtCA	49_117	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-3-1-7-2-1-2	TtAActCAaatcaatTCtCA	49_118	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-3-1-6-1-1-1-1-2	TtAActCAaatcaaTtCtCA	49_119	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-2-1-9-1-1-2	TtAActCAaatcaattCtCA	49_120	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-2-1-8-2-1-2	TtAActCAaatcaatTCtCA	49_121	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-2-2-8-1-1-2	TtAActCAaatcaattCtCA	49_122	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-2-2-7-2-1-2	TtAActCAaatcaatTCtCA	49_123	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-2-2-2-6-1-1-1-1-2	TtAActCAaatcaaTtCtCA	49_124	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-11-1-1-2	TtAACTcaaatcaattCtCA	49_125	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-11-4	TtAACTcaaatcaattCTCA	49_126	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-10-2-1-2	TtAACTcaaatcaatTCtCA	49_127	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-9-1-3-2	TtAACTcaaatcaaTtctCA	49_128	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-9-1-1-1-1-2	TtAACTcaaatcaaTtCtCA	49_129	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-9-3-1-2	TtAACTcaaatcaaTTCtCA	49_130	39573	B

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-7-1-5-2	TtAACTcaaatcAattctCA	49_131	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-2-1-10-2	TtAACTcAaatcaattctCA	49_132	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-2-1-8-1-1-2	TtAACTcAaatcaattCtCA	49_133	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-2-1-7-2-1-2	TtAACTcAaatcaatTCtCA	49_134	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-2-1-6-1-3-2	TtAACTcAaatcaaTtctCA	49_135	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-2-1-6-1-1-1-1-2	TtAACTcAaatcaaTtCtCA	49_136	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-2-1-6-3-1-2	TtAACTcAaatcaaTTCtCA	49_137	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-1-1-11-2	TtAACTcAaatcaattctCA	49_138	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-1-1-9-1-1-2	TtAACTcAaatcaattCtCA	49_139	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-1-1-9-4	TtAACTcAaatcaattCTCA	49_140	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-1-1-8-2-1-2	TtAACTcAaatcaatTCtCA	49_141	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-1-2-8-1-1-2	TtAACTcAaatcaattCtCA	49_142	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	1-1-3-1-2-6-1-3-2	TtAACTcAaatcaaTtctCA	49_143	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-5-1-8-1-1-2	TTaactcAaatcaattCtCA	49_144	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-5-1-7-2-1-2	TTaactcAaatcaatTCtCA	49_145	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-5-1-6-1-1-1-1-2	TTaactcAaatcaaTtCtCA	49_146	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-5-1-6-3-1-2	TTaactcAaatcaaTTCtCA	49_147	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-4-2-8-1-1-2	TTaactcAaatcaattCtCA	49_148	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-4-2-7-2-1-2	TTaactcAaatcaatTCtCA	49_149	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-11-1-1-2	TTaaCtcaaatcaattCtCA	49_150	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-11-4	TTaaCtcaaatcaattCTCA	49_151	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-10-2-1-2	TTaaCtcaaatcaatTCtCA	49_152	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-9-1-3-2	TTaaCtcaaatcaaTtctCA	49_153	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-9-1-1-1-1-2	TTaaCtcaaatcaaTtCtCA	49_154	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-7-1-5-2	TTaaCtcaaatcAattctCA	49_155	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-2-1-10-2	TTaaCtcAaatcaattctCA	49_156	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-2-1-8-1-1-2	TTaaCtcAaatcaattCtCA	49_157	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-2-1-8-4	TTaaCtcAaatcaattCTCA	49_158	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-2-1-7-2-1-2	TTaaCtcAaatcaatTCtCA	49_159	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-2-1-6-1-3-2	TTaaCtcAaatcaaTtctCA	49_160	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-2-1-6-1-1-1-1-2	TTaaCtcAaatcaaTtCtCA	49_161	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-1-1-11-2	TTaaCtCaaatcaattctCA	49_162	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-1-1-9-1-1-2	TTaaCtCaaatcaattCtCA	49_163	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-1-2-10-2	TTaaCtCAaatcaattctCA	49_164	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-2-1-1-2-6-1-3-2	TTaaCtCAaatcaaTtctCA	49_165	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-1-1-10-1-1-1-1-2	TTaActcaaatcaaTtCtCA	49_166	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-1-1-2-1-9-1-1-2	TTaActCaaatcaattCtCA	49_167	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-1-1-2-2-8-1-1-2	TTaActCAaatcaattCtCA	49_168	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-1-2-9-1-1-1-1-2	TTaACTcaaatcaaTtCtCA	49_169	39573	B

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
49	ttaactcaaatcaattctca	2-1-2-2-1-7-2-1-2	TTaACtcAaatcaatTCtCA	49_170	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	2-1-2-2-1-6-1-1-1-1-2	TTaACtcAaatcaaTtCtCA	49_171	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-11-1-1-1-1-2	TTAactcaaatcaaTtCtCA	49_172	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-10-1-2-1-1-2	TTAactcaaatcaAttCtCA	49_173	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-10-1-1-2-1-2	TTAactcaaatcaAtTCtCA	49_174	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-4-1-7-2-1-2	TTAactcAaatcaatTCtCA	49_175	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-4-1-6-1-1-1-1-2	TTAactcAaatcaaTtCtCA	49_176	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-3-1-9-1-1-2	TTAactCaaatcaattCtCA	49_177	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-3-1-9-4	TTAactCaaatcaattCTCA	49_178	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-3-1-8-2-1-2	TTAactCaaatcaatTCtCA	49_179	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-3-2-8-1-1-2	TTAactCAaatcaattCtCA	49_180	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-1-1-11-1-1-2	TTAaCtcaaatcaattCtCA	49_181	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-1-1-9-1-3-2	TTAaCtcaaatcaaTtctCA	49_182	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-1-1-9-1-1-1-1-2	TTAaCtcaaatcaaTtCtCA	49_183	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-1-1-7-1-5-2	TTAaCtcaaatcAattctCA	49_184	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-1-1-2-1-10-2	TTAaCtcAaatcaattctCA	49_185	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-1-1-2-1-8-1-1-2	TTAaCtcAaatcaattCtCA	49_186	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-1-1-2-1-6-1-3-2	TTAaCtcAaatcaaTtctCA	49_187	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	3-1-1-1-1-11-2	TTAaCtCaaatcaattctCA	49_188	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	4-12-4	TTAActcaaatcaattCTCA	49_189	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	4-11-2-1-2	TTAActcaaatcaatTCtCA	49_190	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	4-3-1-7-2-1-2	TTAActcAaatcaatTCtCA	49_191	39573	B
49	ttaactcaaatcaattctca	4-2-1-9-1-1-2	TTAActCaaatcaattCtCA	49_192	39573	B
50	tttaactcaaatcaattctc	4-12-4	TTTAactcaaatcaatTCTC	50_1	39574	B
51	tttaactcaaatcaattct	4-11-4	TTTAactcaaatcaaTTCT	51_1	39575	B
52	ccttttaattcattag	4-8-4	CCTTttaattcaTTAG	52_1	72861	C
53	caacaccttttaattcatta	4-12-4	CAACaccttttaattcATTA	53_1	72862	C
54	aacaccttttaattcatt	4-10-4	AACAccttttaattCATT	54_1	72863	C
55	catcaacaccttttaattca	2-14-4	CATcaacaccttttaaTTCA	55_1	72865	C
56	ctcatcaacaccttttaatt	4-14-2	CTCAtcaacaccttttaaTT	56_1	72867	C
57	actcatcaacaccttttaatt	2-14-4	ACtcatcaacacctttTAAT	57_1	72868	C
58	aactcatcaacaccttttaa	3-13-4	AACTcatcaacacctTTAA	58_1	72869	C
59	taactcatcaacacctttta	4-14-2	TAACTcatcaacacctttTA	59_1	72870	C
60	ttaactcatcaacacctttt	4-13-3	TTAActcatcaacacctTTT	60_1	72871	C
61	ttaactcatcaacaccttt	3-12-4	TTAactcatcaacacCTTT	61_1	72872	C
62	ttaactcatcaacacctt	3-11-4	TTAactcatcaacaCCTT	62_1	72873	C
63	ttaactcatcaacacct	4-9-4	TTAActcatcaacACCT	63_1	72874	C
64	gftaactcatcaacacc	4-10-3	GTTAactcatcaacACC	64_1	72875	C
65	gftaactcatcaacac	4-9-3	GTTAactcatcaaCAC	65_1	72876	C
66	atttccaaattcacttttac	1-1-3-10-2-1-2	AtTTCaaattcactTTtAC	66_1	133964	-

SEQ ID NO	Secuencia de motivo	Diseño	Compuesto de oligonucleótido	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 1	Región
67	ccgttttctaccaccct	5-10-5	CC _o GTTttettaeeAC _o CCT	67_1	114184	-

Las secuencias de motivo representan la secuencia contigua de nucleobases presente en el oligonucleótido.

Los diseños se refieren al diseño *gapmer*, F-G-F'. En el diseño *gapmer* clásico, por ejemplo, 3-10-3, todos los nucleótidos en los flancos (F y F') están constituidos por el mismo nucleósido modificado en azúcar 2', por ejemplo, LNA, cET o MOE, y una serie de ADN en el medio, que forma la separación (G). En *los gapmer* con diseños de flancos alternantes, los flancos del oligonucleótido se anotan como una serie de enteros que representa una cantidad de nucleósidos modificados en azúcar 2' (M) y, a continuación, una cantidad de nucleósidos de ADN (D). Por ejemplo, un flanco con un motivo 2-2-1 representa 5' [M]₂-[D]₂-[M] 3', y un motivo 1-1-1-1-1 representa 5' [M]-[D]-[M]-[D]-[M] 3'. Ambos flancos tienen un nucleósido modificado en azúcar 2' en el terminal 5' y 3'. La región de separación (G), que está constituida por una cantidad de nucleósidos de ADN (generalmente entre 6 y 16), está ubicada entre los flancos.

El encabezado "compuesto de oligonucleótido" de la tabla representa un diseño específico de la secuencia de motivo. Las letras mayúsculas representan nucleósidos de beta-D-oxi LNA, las letras mayúsculas subrayadas representan nucleósidos de MOE, las letras en minúscula representan nucleósidos de ADN, todas las LNA C son 5-metil citosina, e representa un ADN de 5-metil citosina, todos los enlaces internucleósido son enlaces internucleósido fosforotioato a menos que se marquen con una letra en subíndice entre los nucleótidos, la o en subíndice representa un enlace fosfodiéster.

Síntesis de oligonucleótidos

Por lo general, la síntesis de oligonucleótidos es conocida en el estado de la técnica. A continuación se detalla un protocolo que se puede aplicar. Los oligonucleótidos de la presente invención pudieron haberse producido variando ligeramente los métodos en lo que respecta a los aparatos, el soporte y las concentraciones usados.

Los oligonucleótidos se sintetizaron en soportes universales de uridina con el uso del enfoque de fosforamidita en un Oligomaker 48 en escala de 1 µmol. Al finalizar la síntesis, los oligonucleótidos se escindieron del soporte sólido usando amoníaco acuoso de 5 a 16 horas a 60 °C. Los oligonucleótidos se purificaron mediante HPLC de fase inversa (RP-HPLC) o mediante extracciones de fase sólida y se caracterizaron mediante UPLC, y la masa molecular se confirmó adicionalmente mediante ESI-MS.

Elongación del oligonucleótido:

El acoplamiento de β-cianoetil- fosforamiditas (ADN-A(Bz), ADN- G(ibu), ADN- C(Bz), ADN- T, LNA-5-metil-C(Bz), LNA-A(Bz), LNA- G(dmf) o LNA-T) se llevó a cabo usando una solución de 0,1

M de la amidita protegida por 5'-O-DMT en acetonitrilo y DCI (4,5-dicianoimidazol) en acetonitrilo (0,25 M) como activador. Para el ciclo final se podía usar una fosforamidita con modificaciones deseadas, por ejemplo, un ligador C6 para unir un grupo conjugado o un grupo conjugado como tal. La tiolación para la introducción de enlaces fosforotioato se llevó a cabo usando hidruro de xantano (0,01 M en acetonitrilo/piridina 9:1). Los enlaces fosforodiéster se podían introducir usando yodo 0,02 M en THF/piridina/agua 7:2:1. El resto de los reactivos era el que se usaba normalmente para la síntesis de oligonucleótidos.

Para la conjugación posterior de síntesis de fase sólida se podía usar forforamidita aminoligadora C6 disponible en el comercio en el último ciclo de la síntesis de fase sólida, y después de la desprotección y escisión del soporte sólido, se aisló el oligonucleótido desprotegido aminoligado. Los conjugados se introdujeron mediante activación del grupo funcional usando métodos de síntesis estándar.

Purificación mediante RP-HPLC:

Los compuestos crudos se purificaron mediante RP-HPLC preparativa en una columna Phenomenex Jupiter C18 10 μ 150x10 mm. Se usaron acetato de amonio 0,1 M a pH 8 y acetonitrilo como amortiguadores a una velocidad de flujo de 5 ml/min. Las fracciones recolectadas se liofilizaron para obtener el compuesto purificado normalmente como un sólido blanco.

Abreviaturas:

DCI: 4,5-dicianoimidazol

DCM: Diclorometano

DMF: Dimetilformamida

DMT: 4,4'-Dimetoxitritilo

THF: Tetrahidrofurano

Bz: Benzoílo

Ibu: Isobutirilo

RP-HPLC: Cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa

Ensayo T_m :

Los dúplex diana de oligonucleótido y ARN (ligados a fosfato, PO) se diluyeron a 3 mM en 500 ml de agua libre de RNasa y se mezclaron con 500 ml de 2x T_m -amortiguador (200 mM de NaCl, 0,2 mM de EDTA, 20 mM de fosfato de na, pH 7,0). La solución se calentó hasta 95 °C durante 3 min y luego se sometió a hibridación a temperatura ambiente durante 30 min. Las temperaturas de fusión dúplex (T_m) se midieron en un espectrofotómetro Lambda 40 UV/VIS equipado con un programador de temperatura Peltier PTP6 con el uso de software PE Templab (Perkin Elmer). La temperatura aumentó de 20 °C a 95 °C y luego descendió a 25 °C, y se registró la absorción a 260 nm. El primer derivado y los máximos locales de la fusión y la hibridación se usaron para evaluar la T_m del dúplex.

Cultivos de células neuronales primarias

Los cultivos de neuronas primarias se establecieron a partir del prosencéfalo de ratones transgénicos E18 que expresaban el transgén tau humano en un fondo de inactivación de tau de ratón. (Andorfer *et al.* J Neurochem 86:582–590 (2003)). Las neuronas primarias se generaron mediante digestión de papaína de acuerdo con el protocolo del fabricante (Worthington Biochemical Corporation, LK0031050). Brevemente, los prosencéfalos se diseccionaron de embriones de ratón hTau E18 BAC-Tg que expresaban el gen de la proteína Tau humana asociada a los microtúbulos (MAPT) entero en un fondo deficiente de MAPT murina y se incubaron a 37 °C durante 30-45 minutos en una solución de papaína/DNasa/solución salina balanceada de Earle (EBSS). Luego de la trituración y centrifugación de pelet celular, la reacción se interrumpió mediante incubación con EBSS que contenía inhibidores de proteasa, albúmina de suero bovino (BSA) y DNasa. Las células se trituraron y se lavaron con Neurobasal (NB, Invitrogen) enriquecido con 2 % de B-27, 100 µg/ml de penicilina, 85 µg/ml de estreptomycin y 0,5mM de glutamina.

Ratón con Tau transgénica (ratón hTau)

Se utilizaron ratones transgénicos machos y hembras (30-40 g) que expresan un transgén tau derivado de un haplotipo PAC, H1 impulsado por el promotor de tau (Polydoro *et. al.*, *J. Neurosci.* (2009) 29(34): 10741-9), y del cual se eliminó el gen Tau nativo del ratón, para evaluar la tolerabilidad, criterios de valoración de farmacodinámica y concentración del fármaco en tejidos.

Los animales se mantuvieron en habitaciones de colonias a una temperatura (21 ± 2 °C) y humedad (50 ± 10 %) constantes y se iluminaron durante 12 horas por día (las luces se encendían a las 06:00). Todos los animales tenían acceso a alimentos y agua durante los estudios a demanda. Se llevaron a cabo estudios de comportamiento entre las 0700 y 1500 horas.

Se llevaron a cabo inyecciones intracerebroventriculares (ICV) usando una microjeringa Hamilton equipada con una aguja de calibre 27 o 30, de acuerdo con el método de Haley y McCormick. La aguja se equipó con un protector de polietileno a 2,5 mm de la punta para limitar su penetración en el cerebro. Los ratones se anestesiaron usando anestésico de isoflurano (1,5 a 4 %). Se sujetó al ratón que se deseaba inyectar por la piel de la nuca con el pulgar y los primeros dedos de una mano. Aplicando una presión suave pero firme, luego se inmovilizó la cabeza del animal presionando contra una superficie firme y plana. Luego se insertó la punta de la aguja a través del cuero cabelludo y el cráneo, aproximadamente 1 mm lateral y 1 mm caudal a bregma. Una vez posicionada la aguja, se proporcionó ASO en un volumen de 5 microlitros en vehículo salino y se inyectó en el ventrículo lateral derecho (o izquierdo) durante 20-30 segundos. La aguja se dejó en el lugar durante 10 segundos antes de retirarse. Este procedimiento no necesita cirugía ni incisión. Se les proporcionó calor a los animales con almohadillas térmicas hasta que se recuperaron del procedimiento.

3 días y/o 4 semanas después de la administración, los ratones fueron sacrificados mediante sobredosis de isoflurano y luego decapitación rápida, y se recolectó el tejido cerebral (región cortical

frontal derecha) en hielo seco para la posterior qPCR de Tau.

Medios utilizados para cultivo y diferenciación celular de neuronas que derivan de células madre humanas

Medio de N2B27 + SFA =N2B27 + citocinas S,F,A

Citocinas utilizadas	Ref.	Proveedor	Reserva	Uso final en N2B27 (dilución)
SHH (<i>sonic hedgehog</i>)	100-45	Peprtech	100 ug/ml en PBS + 0,1 % de BSA	1:500 (200 ng/ml)
FGF8	100-25	Peprtech	100 ug/ml en	1:1000 (100 ng/ml)
AA (Aa2-P)	A8960	Sigma	PBS + 0,1 % de 100 mM de BSA en DMEM:F12	1:1000

Medio de N2B27 + BGAA =N2B27 + citocinas B,G,Aa,cA + P/S + laminina

Citocinas utilizadas	Ref.	Proveedor	Reserva	Uso final en N2B27 (dilución)
BDNF	450-02	Peprtech	20 ug/ml en PBS + 0,1 % de BSA	1:1000
GDNF	450-10	Peprtech	10 ug/ml en PBS + 0,1 % de BSA	1:1000
AA (Aa2-P)	A8960	Sigma	100 mM en DMEM:F12	1:1000
cAMP	D 009	BIOLOG Life Science	200 mM en agua	1:400
PenStrep	15140-122	Gibco		1%
laminina	11243217 001	Roche	1mg/ml	1:500

Ejemplo 1 cribado *in vitro* de ASO que actúan sobre intrones de MAPT

Se llevó a cabo una cribado de oligonucleótidos antisentido (ASO) en células neuronales primarias de ratones con Tau humanizada con 807 ASO que actúan sobre intrones de MAPT.

La capacidad de los ASO de reducir el ARNm de MAPT *in vitro* se midió con un análisis QUANTIGENE®. Cada reducción de ARNm de Tau se estandarizó mediante la sustracción de una señal de fondo de ensayo y la normalización de cada cavidad a través de la señal de ARNm del gen *housekeeping* de tubulina.

Los cultivos de células neuronales primarias se prepararon según se describe en la sección “Materiales y método” y se colocaron en placas recubiertas con poli-D-lisina de 384 cavidades con 10000 células por cavidad y se mantuvieron en medio Neurobasal que contenía B27, glutamax y penicilina-estreptomicina. Los ASO se diluyeron en agua y se agregaron a las células en DIV01 a una concentración final de 0,5 μ M. Luego de la adición de los ASO, las neuronas se incubaron a 37 °C y 5 % de CO₂ durante 5 días para lograr una reducción estable de ARNm. Se retiró el medio, y las células se lavaron 1 X en DPBS. La medición del ARN mensajero lisado se llevó a cabo mediante el Sistema Reactivo QUANTIGENE® 2.0 (AFFYMETRIX®), que cuantifica el ARN usando un método de amplificación de señal de ADN ramificado que depende del kit de sondas de captura de ARN

diseñado específicamente. Las células se lisaron con solución amortiguadora de lisis celular de trabajo que se elaboró añadiendo 50 µl de proteinasa K a 5 ml de mezcla de lisis precalentada y diluida hasta una dilución total 1:4 con dH₂O. El amortiguador de lisis de trabajo se agregó a la placa (45 µl/cavidad), se trituró para mezclar, se selló y se incubó durante 30 min a 55 °C. Luego de la lisis, las cavidades se almacenaron a -80 °C o se ensayaron inmediatamente.

Los lisados se diluyeron en una mezcla de lisis que dependía de la sonda de captura específica que se había usado (tau o tubulina). Luego, se agregaron 27 µl/cavidad en total a la placa de captura (placa de poliestireno de 384 cavidades recubierta con sondas de captura). Los reactivos de los kits de sondas de trabajo se generaron combinando 2,2 ml de agua libre de nucleasa, 1,2 ml de mezcla de lisis, 184 µl de reactivo de bloqueo y 66,8 µl de MATP humana del kit de sondas específico 2.0, catálogo #15486 y tubulina beta 3 de ratón, catálogo #SB-17245, según las instrucciones del fabricante (QUANTIGENE® 2.0 AFFYMETRIX®). Luego se agregaron 7 µl de reactivos del kit de sondas de trabajo a 27 µl de dilución de lisado (o 27 µl de mezcla de lisis para muestras de fondo) en la placa de captura. Las placas se centrifugaron y luego se incubaron durante 16-20 horas a 55 °C para hibridar (captura del ARN diana). La amplificación de señal y la detección del ARN diana comenzaron con el lavado de las placas con amortiguador 3 veces para retirar el material sin unir. Se agregó reactivo de hibridación 2.0 Pre-Amplifier (30 µl/cavidad), se incubó a 55 °C durante 1 hora y luego se aspiró, y se agregó amortiguador de lavado y se aspiró 3 veces. Luego se agregó el reactivo de hibridación 2.0 Amplifier según se describe (30 µl/cavidad), se incubó durante 1 hora a 55 °C, y se repitió el lavado como se describió anteriormente. A continuación se agregó el reactivo de hibridación 2.0 Label Probe (30 µl/cavidad), se incubó durante 1 hora a 50 °C, y se repitió el lavado como se describió anteriormente. Por último, las placas se centrifugaron para retirar cualquier exceso de amortiguador de lavado, y se agregó 2.0 Substrate (30 µl/cavidad). Las placas se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente, y las placas se visualizaron en un lector multidetector PerkinElmer Envision en modo luminómetro dentro de los 15 minutos.

Para el gen de interés, se sustrajo la señal de fondo de ensayo promedio de la señal promedio de cada réplica técnica. Las señales promedio con sustracción de fondo para el gen de interés se dividen por la señal promedio con sustracción de fondo para el ARN de tubulina *housekeeping*. El porcentaje de inhibición para la muestra tratada se calculó con relación a la muestra sin tratar (es decir, a menor valor, mayor inhibición). La variabilidad del fondo de las muestras sin tratar puede tener como resultado que el porcentaje de inhibición de una muestra tratada sea igual o superior al fondo y, en esos casos, el porcentaje de inhibición se expresa como 100 % inhibición de control (es decir, sin inhibición).

La Figura 1 muestra la reducción en el ARNm de MAPT lograda por todos los 807 ASO. En la figura se indican tres regiones, A, B y C, en el ácido nucleico diana de MAPT. Estas regiones tienen una alta prevalencia de ASO que reducen la diana a 40 % o menos, en comparación con el control

(100 %).

Ejemplo 2 cribado *in vitro* de ASO que actúan sobre regiones de MAPT seleccionadas

En función del cribado del Ejemplo 1 se designó una nueva genoteca de ASO para actuar sobre las regiones diana A, B y C, como se ilustra en la Figura 1. Las secuencias de motivos y los compuestos de oligonucleótido se muestran en la Tabla 5 más arriba.

El cribado se llevó a cabo según se describió en el Ejemplo 1. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6 cribado *in vitro* de compuestos anti-MAPT

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
6_1	TCACtcatgccttaaTC	2
7_1	TAATcactcatgcCTTA	15
8_1	TAATcactcatgCCTT	34
9_1	CtttaatttaaTcaCtCAT	41
9_2	CtttaatttaaTcACtCAT	36
9_3	CtttaatttaaTCactCAT	28
9_4	CtttaatttaaTCacTCAT	31
9_5	CtttaatttaaTCaCtCAT	28
9_6	CtttaatttaaTCaCtCAT	55
9_7	CtttaatttaaTCActCAT	30
9_8	CtttaatttaaTCAcTCAT	21
9_9	CtttaatttaaTCAcTCAT	61
9_10	CtttaatttaaTCACtCAT	24
9_11	CtttaaTtaatcacTCAT	14
9_12	CtttaaTtaatcaCtCAT	22
9_13	CtttaaTtaatcActCAT	33
9_14	CtttaaTtaatcAcTCAT	9
9_15	CtttaaTtaatcACtCAT	20
9_16	CtttaAtttaatcacTCAT	17
9_18	CtttAatttaatcacTCAT	10
9_19	CtttAatttaatcaCtCAT	17
9_20	CtttAaTtaatcacTCAT	0
9_21	CtttAAtttaatcacTCAT	3
9_22	CtttAATttaatcacTCAT	1
9_23	CttTaatttaatcacTCAT	13
9_24	CttTaatttaatcaCtCAT	13
9_25	CttTaaTtaatcacTCAT	4
9_26	CttTaAtttaatcacTCAT	4
9_27	CttTaATttaatcacTCAT	1
9_28	CttTAatttaatcacTCAT	12
9_29	CttTAatttaatcacTCAT	1
9_30	CttTAatttaatcaCtCAT	15
9_31	CttTAatttaatcaCtCAT	4
9_32	CttTAaTtaatcacTCAT	1
9_33	CttTAAtttaatcacTCAT	1
9_34	CttTAATttaatcactCAT	4
9_35	CttTAATttaatcacTCAT	1
9_36	CtTtaaTtaatcacTCAT	5
9_37	CtTtaAtttaatcacTCAT	7

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
9_38	CtTtaATttaatcacTCAT	2
9_39	CtTtAatttaacacTCAT	3
9_40	CtTtAatttaatcaCtCAT	9
9_41	CtTtAaTttaatcacTCAT	4
9_42	CtTtAAtttaacacTCAT	1
9_43	CtTtAATttaatcacTCAT	1
9_44	CtTTaatttaacacTCAT	2
9_45	CtTTaatttaatcaCtcAT	15
9_46	CtTTaatttaatcaCtCAT	3
9_47	CtTTaaTttaatcacTCAT	2
9_48	CtTTaAtttaacacTCAT	1
9_49	CtTTaATttaatcactcAT	1
9_50	CtTTaATttaatcacTCAT	1
9_51	CtTTAatttaacactCAT	1
9_52	CtTTAatttaacacTCAT	1
9_53	CtTTAatttaatcaCtcAT	6
9_54	CtTTAatttaatcaCtCAT	2
9_56	CtTTAaTttaatcacTCAT	1
9_57	CtTTAAtttaacactcAT	1
9_58	CtTTAAtttaacacTCAT	1
9_59	CTttaatttaatcActCAT	39
9_60	CTttaatttaatcAcTCAT	10
9_61	CTttaatttaatcACtCAT	20
9_62	CTttaatttaaTCactcAT	26
9_63	CTttaatttaaTCactCAT	14
9_64	CTttaatttaaTCacTCAT	14
9_65	CTttaatttaaTCaCtcAT	15
9_66	CTttaatttaaTCaCtCAT	38
9_67	CTttaatttaaTCActcAT	9
9_68	CTttaatttaaTCActCAT	12
9_69	CTttaatttaaTCACtcAT	9
9_70	CTtaaTttaatcactCAT	42
9_71	CTtaaTttaatcacTCAT	6
9_72	CTtaaTttaatcaCtcAT	49
9_73	CTtaaTttaatcaCtCAT	15
9_74	CTtaaTttaatcActCAT	16
9_75	CTtaaTttaatcAcTCAT	12
9_76	CTtaaTttaatcACtcAT	32
9_77	CTtaaTttaatcACtCAT	15
9_78	CTtAatttaatcactCAT	21
9_79	CTtAatttaatcacTCAT	3
9_80	CTtAatttaatcaCtCAT	10
9_81	CTtAaTttaatcacTCAT	2
9_82	CTtAAtttaatcacTCAT	1
9_84	CTtTaatttaatcaCtcAT	22
9_85	CTtTaatttaatcaCtCAT	8
9_86	CTtTaAtttaatcacTCAT	2
9_89	CTtTAatttaatcacTCAT	1
9_90	CTtTAatttaatcaCtcAT	5
9_92	CTtTAaTttaatcactcAT	1
9_94	CTtTAAtttaatcacTCAT	1

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
9_97	CTTtAatttaacactCAT	0
9_98	CTTtAatttaacacTCAT	1
9_99	CTTtAatttaatcaCtcAT	7
9_100	CTTtAatttaatcaCtCAT	3
9_101	CTTtAAtttaacacTCAT	1
9_103	CTTTaatttaacacTCAT	0
9_105	CTTTaaTttaacactcAT	0
9_106	CTTTaAtttaacacTCAT	1
10_1	GctttaatttaaTcaCtCAT	35
10_2	GctttaatttaaTCactcAT	56
10_3	GctttaatttaaTCactCAT	18
10_4	GctttaatttaaTCacTCAT	21
10_5	GctttaatttaaTCaCtcAT	16
10_6	GctttaatttaaTCaCtCAT	35
10_7	GctttaatttaaTCActcAT	22
10_8	GctttaatttaaTCACtcAT	12
10_9	GctttaaTttaacactCAT	61
10_10	GctttaaTttaacacTCAT	19
10_11	GctttaaTttaatcaCtcAT	76
10_12	GctttaaTttaatcaCtCAT	12
10_13	GctttaaTttaaTcaCtCAT	15
10_14	GctttaaTttaaTCactCAT	7
10_15	GctttaaTttaaTCaCtcAT	14
10_16	GctttaaTttaaTCActcAT	10
10_17	GctttaAtttaacacTCAT	28
10_18	GctttAatttaacacTCAT	16
10_19	GctttAatttaatcaCtCAT	13
10_20	GctttAaTttaacacTCAT	2
10_21	GctttAAtttaacacTCAT	3
10_22	GctttAATttaacacTCAT	1
10_23	GcttTaatttaacacTCAT	18
10_24	GcttTaatttaatcaCtcAT	51
10_25	GcttTaatttaatcaCtCAT	8
10_26	GcttTaaTttaacacTCAT	4
10_27	GcttTAatttaacacTCAT	3
10_28	GcttTAatttaatcaCtcAT	2
10_29	GcttTAatttaatcaCtCAT	13
10_30	GcttTAatttaatcaCtCAT	3
10_31	GctTtaaTttaacacTCAT	4
10_32	GctTtaAtttaacacTCAT	6
10_33	GctTtAatttaacacTCAT	3
10_34	GctTtAatttaatcaCtcAT	18
10_35	GctTtAatttaatcaCtCAT	6
10_36	GctTtAaTttaacacTCAT	2
10_37	GctTtAAtttaacacTCAT	1
10_38	GctTTaatttaacacTCAT	1
10_39	GctTTaatttaatcaCtcAT	12
10_40	GctTTaatttaatcaCtCAT	3
10_41	GctTTaAtttaacacTCAT	1
10_42	GctTTAatttaatcaCtcAT	5
10_43	GcTttaatttaaTCactcAT	15

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
10_44	GcTttaatttaaTCactCAT	11
10_45	GcTttaatttaaTCaCtcAT	15
10_46	GcTttaatttaaTCActcAT	7
10_47	GcTttaaTttaatcactCAT	23
10_48	GcTttaaTttaatcacTCAT	6
10_49	GcTttaaTttaatcaCtcAT	34
10_50	GcTttaaTttaatcaCtCAT	12
10_51	GcTtaAtttaatcacTCAT	10
10_52	GcTtAatttaatcacTCAT	5
10_53	GcTtAatttaatcaCtcAT	26
10_54	GcTtAatttaatcaCtCAT	10
10_55	GcTtAaTttaatcacTCAT	3
10_56	GcTtAAtttaatcacTCAT	2
10_57	GcTtTaatttaatcacTCAT	5
10_58	GcTtTaatttaatcaCtCAT	9
10_59	GcTtTaaTttaatcacTCAT	5
10_60	GcTtTaAtttaatcacTCAT	4
10_61	GcTtTAatttaatcaCtcAT	10
10_62	GcTtTAAtttaatcactcAT	4
10_63	GcTTtaaTttaatcacTCAT	2
10_64	GcTTtaAtttaatcactcAT	21
10_65	GcTTtaAtttaatcacTCAT	2
10_66	GcTTtAatttaatcacTCAT	2
10_67	GcTTtAatttaatcaCtCAT	1
10_68	GcTTtAAtttaatcactcAT	4
10_69	GcTTTaatttaatcaCTcAT	1
10_70	GcTTTAAtttaatcaCtcAT	5
10_71	GCtttaatttaatCactcAT	71
10_72	GCtttaatttaaTCactcAT	22
10_73	GCtttaaTttaatcactcAT	76
10_74	GCtttaaTttaatcactCAT	25
10_75	GCtttaaTttaatcaCtcAT	43
10_76	GCtttaATttaatcactcAT	25
10_77	GCtttAatttaatcaCtcAT	13
10_78	GCtttAAtttaatcactcAT	22
10_79	GCttTaatttaatcaCtcAT	16
10_80	GCttTaAtttaatcactcAT	8
10_81	GCttTAAtttaatcactcAT	3
10_82	GCttTaAtttaatcactcAT	21
10_83	GCttTAatttaatcaCtcAT	7
10_84	GCttTAAtttaatcactcAT	3
10_85	GCTttaatttaatCactcAT	29
10_86	GCTttaaTttaatcactcAT	32
10_87	GCTttaAtttaatcactcAT	38
10_88	GCTttAAtttaatcactcAT	6
10_89	GCTtTaatttaatcAcTcAT	9
11_1	CTTTaatttaatcaCTCA	0
12_1	CTTTaatttaatcACTC	0
19_1	ACAccatccaagtCAAT	20
20_1	TACaccatccaagTCAA	18
21_1	TTACaccatccaagtCA	0

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
22_1	TTACaccatccaaGTC	5
23_1	AATAttacaccatCCAA	0
24_1	AgaaTattacaccatCCAA	11
24_2	AgaaTattacaccaTcCAA	8
24_3	AgaaTattacaccaTCcAA	6
24_4	AgaaTattacaccAtcCAA	11
24_5	AgaaTattacaccAtCCAA	14
24_6	AgaaTattacaccATcCAA	6
24_7	AgaaTattacaccATCcAA	2
24_8	AgaaTattacacCaTCcAA	12
24_9	AgaaTattacaCcAtCcAA	11
24_10	AgaaTattacaCcATcCAA	18
24_11	AgaAtattacaccatCCAA	10
24_12	AgaAtattacaccaTcCAA	12
24_13	AgaATattacaccatcCAA	1
24_14	AgaATattacaccaTCcAA	1
24_15	AgaATattacaccAtcCAA	9
24_16	AgaATattacaccAtCcAA	0
24_17	AgaATattacaccATCcAA	10
24_18	AgaATattacacCaTcCAA	3
24_19	AgAatattacaccAtCCAA	10
24_20	AgAatattacaccATCcAA	13
24_21	AgAaTattacaccatcCAA	0
24_22	AgAaTattacaccaTCcAA	3
24_23	AgAaTattacaccAtcCAA	13
24_24	AgAaTattacaccAtCcAA	1
24_25	AgAaTattacaccATCcAA	8
24_26	AgAaTattacacCatcCAA	3
24_27	AgAaTattacaCcatcCAA	1
24_28	AgAaTAttacacCaTccAA	5
24_29	AgAAtattacaccaTCcAA	13
24_30	AgAATattacaccatcCAA	10
24_31	AgAATattacaccatCcAA	4
24_32	AgAATattacaccaTCcAA	12
24_33	AgAATattacaccAtcCAA	13
24_34	AgAATattacaccAtCcAA	5
24_35	AgAATattacacCaTCcAA	4
24_36	AGaatAttacaccaTCcAA	5
24_37	AGaatAttacacCatcCAA	2
24_38	AGaaTattacaccatcCAA	11
24_39	AGaaTattacaccatCcAA	3
24_40	AGaaTattacaccaTCcAA	17
24_41	AGaaTattacaccAtcCAA	9
24_42	AGaaTattacaccAtCcAA	2
24_43	AGaaTattacaccATCcAA	5
24_44	AGaaTattacaCcAtCcAA	9
24_45	AGaaTAttacacCaTcCAA	3
24_46	AGaAtattacaccaTCcAA	9
24_47	AGaAtAttacacCaTCcAA	26
24_48	AGaATattacaccatcCAA	8
24_49	AGaATattacaccatCcAA	0

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
24_50	AGaATattacaccaTCcAA	2
24_51	AGaATattacaccAtcCAA	4
24_52	AGaATattacaccAtCcAA	0
24_53	AGaATAttacaccatCcAA	1
24_54	AGAatattacaccaTCcAA	5
24_55	AGAatattacaccAtcCAA	1
24_56	AGAatattacaccAtCcAA	0
24_57	AGAAtattacaccatCcAA	0
24_58	AGAAtattacaccAtccAA	13
24_59	AGAAtattacaccAtCcAA	11
24_60	AGAAtattacaccatCcAA	11
24_61	AGAAtattacacCatccAA	56
24_62	AGAAtAttacaccatCcAA	4
25_1	CagaaTattacaccaTcCAA	8
25_2	CagaaTattacaccaTCcAA	11
25_3	CagaaTattacacCatCcAA	9
25_4	CagaaTattacaCcAtCcAA	12
25_5	CagaAtattacaccaTCcAA	20
25_6	CagaAtattacaCCatccAA	10
25_7	CagaAtAttacacCATccAA	6
25_8	CagaATattacaccatcCAA	5
25_9	CagaATattacaccatCcAA	6
25_10	CagaATattacaccaTCcAA	9
25_11	CagaATattacaccAtCcAA	12
25_12	CagAatattacaccaTCcAA	11
25_13	CagAatattacaccAtcCAA	2
25_14	CagAatAttacacCaTCcAA	19
25_15	CagAaTattacaccatcCAA	13
25_16	CagAaTattacaccaTCcAA	7
25_17	CagAaTattacaccAtcCAA	0
25_18	CagAaTattacaccAtCcAA	13
25_19	CagAaTattacacCaTCcAA	6
25_20	CagAaTAttacacCatCcAA	12
25_21	CagAAtattacacCATccAA	2
25_22	CagAAtattacacCatCcAA	25
25_23	CaGaaTattacaccatcCAA	2
25_24	CaGaaTattacaccatCcAA	3
25_25	CaGaaTattacaccaTCcAA	5
25_26	CaGaaTattacaccAtcCAA	0
25_27	CaGaaTattacaccAtCcAA	10
25_28	CaGaaTattacaCcatccAA	4
25_29	CaGaAtattacaccatCcAA	6
25_30	CaGaAtattacaccaTCcAA	3
25_31	CaGaAtAttacaccatCcAA	6
25_32	CaGaAtAttacacCATccAA	2
25_33	CaGAatattacaccAtCcAA	5
25_34	CaGAatattacaCcAtccAA	10
25_35	CAGaaTattacaccatCcAA	5
25_36	CAGaaTattacaccAtccAA	5
25_37	CAGaaTattacaccAtCcAA	3
25_38	CAGaAtattacaccatCcAA	26

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
25_39	CAGaattattacaccAtccAA	1
25_40	CAGaattattacaccAtCcAA	11
25_41	CAGaATattacaccAtccAA	6
25_42	CAGaATattacacCatccAA	73
25_43	CAGAAattacaccatCcAA	1
26_1	GaatattacacCATCCAA	11
26_2	GaatattacacCATcCAA	13
26_3	GaatattacacCATCcAA	10
26_4	GaatAttacaccatCCAA	0
26_5	GaaTattacaccatCCAA	2
26_6	GaaTattacaccAtCCAA	0
26_7	GaaTAttacacCATCcAA	8
26_8	GaAtattacaccatCCAA	1
26_9	GaAtAttacaccatCCAA	1
26_10	GaAtAttacacCATCcAA	22
26_11	GaATattacaccatCCAA	1
26_12	GaATattacaccaTCcAA	2
26_13	GaATattacaccAtCCAA	3
26_14	GaATattacaccATCcAA	3
26_15	GaATattacacCAtcCAA	1
26_16	GAatattacaccAtCCAA	0
26_17	GAatattacaccATCcAA	1
26_18	GAatattacacCATCcAA	8
26_19	GAatAttacacCATCcAA	22
26_20	GAaTattacaccatcCAA	1
26_21	GAaTattacaccaTCcAA	1
26_22	GAaTattacaccAtcCAA	4
26_23	GAaTattacaccATCcAA	5
26_24	GAaTattacacCatcCAA	9
26_25	GAaTattacacCATccAA	2
26_26	GAAatattacaccatCCAA	3
26_27	GAAatattacaccaTCcAA	3
26_28	GAAatattacacCATCcAA	5
26_29	GAATattacaccatcCAA	0
26_30	GAATattacaccAtcCAA	0
26_31	GAATattacacCaTCcAA	24
27_1	AATAttacaccaTCCA	0
28_1	AgaaTattacaccatCCA	1
28_2	AgaaTattacaccaTcCA	6
28_3	AgaaTattacaccAtCCA	1
28_4	AgaaTattacaccATcCA	5
28_5	AgaAtattacaccatCCA	5
28_6	AgaAtattacaccaTCCA	6
28_7	AgaAtAttacaccaTcCA	3
28_8	AgaAtAttacacCatcCA	4
28_9	AgaATattacaccatcCA	2
28_10	AgaATattacaccAtcCA	0
28_11	AgAatattacaccaTCCA	8
28_12	AgAatattacaccAtCCA	1
28_13	AgAatattacacCAtcCA	1
28_14	AgAatAttacacCatcCA	3

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
28_15	AgAatAttacacCatCCA	6
28_16	AgAaTattacaccatcCA	3
28_17	AgAaTattacaccatCCA	1
28_18	AgAaTattacaccAtcCA	3
28_19	AgAaTattacaccAtCCA	0
28_20	AgAaTattacacCatcCA	6
28_21	AgAaTattacaCcatcCA	3
28_22	AgAaTAttacacCatcCA	5
28_23	AgAATattacaccatCCA	0
28_24	AgAATattacaccatcCA	2
28_25	AgAATattacaccAtcCA	3
28_26	AGaaTattacaccatcCA	2
28_27	AGaaTattacaccAtcCA	1
28_28	AGaAtattacaccatCCA	1
28_29	AGaATattacaccatcCA	0
28_30	AGaATattacaccAtcCA	1
28_31	AGAatattacaccAtcCA	1
28_32	AGAaTattacaccatcCA	1
28_33	AGAaTattacaccAtcCA	5
29_1	CagaaTattacaccaTcCA	1
29_2	CagaAtattacaccatCCA	4
29_3	CagaAtattacaCcatcCA	15
29_4	CagaATattacaccatcCA	6
29_5	CagaATattacaccAtcCA	12
29_6	CagaATattacacCatcCA	3
29_7	CagAaTattacaccatcCA	2
29_8	CagAaTattacaccAtcCA	9
29_9	CagAATattacaccatcCA	0
29_10	CaGaaTattacaccatcCA	0
29_11	CaGaaTattacaccAtcCA	7
29_12	CaGAatattacaccAtcCA	4
29_13	CAGaAtattacaccAtcCA	0
29_14	CAGaAtattacAccAtcCA	2
30_1	GaatattacacCAtCCA	20
30_2	GaatAttacaccaTCCA	2
30_3	GaaTattacaccatCCA	1
30_4	GaaTattacaccAtCCA	1
30_5	GaAtattacaccatCCA	0
30_6	GaAtattacaccaTCCA	1
30_7	GaAtattacacCAtCCA	4
30_8	GaAtattacaCCatcCA	2
30_9	GaAtAttacacCATcCA	20
30_10	GaATattacaccatCCA	1
30_11	GaATattacaccAtCCA	4
30_12	GAatattacaccaTCCA	1
30_13	GAatattacaccAtCCA	1
30_14	GAatAttacaccatCCA	2
30_15	GAatAttacacCatcCA	3
30_16	GAaTattacaccatcCA	5
30_17	GAaTattacaccatCCA	0
30_18	GAaTattacaccAtcCA	5

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
30_19	GAaTattacaccAtCCA	3
30_20	GAaTattacacCAtcCA	2
30_21	GAaTattacaCcatcCA	2
30_22	GAAtattacaccatCCA	4
30_23	GAAtattacacCatcCA	2
30_24	GAATattacaccatcCA	1
30_25	GAATattacaccAtcCA	3
31_1	TcAgaaTattacaccatcCA	10
31_2	TcAgaaTattacaccAtcCA	3
31_3	TcAgaAtattacaccaTcCA	7
32_1	AgaaTattacaccaTCC	1
32_2	AgaaTattacaccATCC	1
32_3	AgaaTAttacacCatCC	0
32_4	AgaAtattacaccaTCC	5
32_5	AgaAtattacACcAtCC	39
32_6	AgaAtAttacacCatCC	7
32_7	AgaATattacaccaTCC	1
32_8	AgaATattacaccAtCC	0
32_9	AgaATattacaccATCC	1
32_10	AgAatattacaccaTCC	1
32_11	AgAatattacaccATCC	5
32_12	AgAatattacaCcAtCC	5
32_13	AgAatattacaCcATCC	15
32_14	AgAatattacAccaTCC	3
32_15	AgAatattacACcatCC	0
32_16	AgAatattacACCatCC	18
32_17	AgAaTattacaccaTCC	4
32_18	AgAaTattacaccAtCC	3
32_19	AgAaTattacaccATCC	3
32_20	AgAaTattacacCatCC	10
32_21	AgAaTattacaCcAtCC	18
32_22	AgAAtattacaccaTCC	5
32_23	AgAAtattacaCCatCC	6
32_24	AgAAtattacAcCatCC	34
32_25	AgAATattacaccatCC	1
32_26	AgAATattacaccaTCC	1
32_27	AgAATattacaccAtCC	2
32_28	AgAATattacaccATCC	2
32_29	AgAATattacaCcAtCC	13
32_30	AGaaTattacaccatCC	5
32_31	AGaaTattacaccaTCC	0
32_32	AGaaTattacaccAtCC	4
32_33	AGaaTattacaccATCC	1
32_34	AGaAtattacaccatCC	2
32_35	AGaAtattacaccaTCC	1
32_36	AGaAtattacacCaTCC	4
32_37	AGaAtattacAccATCC	11
32_38	AGaATattacaccatCC	0
32_39	AGaATattacaccAtCC	0
32_40	AGAatattacaccaTCC	4
32_41	AGAatattacaccAtCC	0

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
32_42	AGAatattacAccaTCC	2
32_43	AGAatattacAccAtCC	10
32_44	AGAatattacAcCatCC	12
32_45	AGAatAttacaccatCC	3
32_46	AGAAaTattacaccatCC	1
32_47	AGAAaTattacaccAtCC	1
32_48	AGAAatattacaccatCC	0
32_49	AGAAatattacaccaTCC	0
32_50	AGAAatattacacCatCC	0
32_51	AGAAatattacAcCatCC	5
33_1	CagaaTattacaccaTCC	7
33_2	CagaAtattacaccaTCC	55
33_3	CagaAtattacaCcaTCC	19
33_4	CagaAtattacAccaTCC	8
33_5	CagaAtattacACcatCC	20
33_6	CagaATattacaccatCC	1
33_7	CagaATattacaccaTCC	2
33_8	CagaATattacaccAtCC	3
33_9	CagAatattacaccaTCC	1
33_10	CagAatAttacaccaTCC	10
33_11	CagAaTattacaccaTCC	0
33_12	CagAAatattacaccaTCC	11
33_13	CagAAatattacacCaTCC	4
33_14	CagAATattacaCcatCC	3
33_15	CaGaatAttacacCAtCC	5
33_16	CaGaaTattacaccAtCC	1
33_17	CaGaAtattacaccatCC	1
33_18	CaGaAtattacaccaTCC	14
33_19	CaGaAtattacaCcatCC	6
33_20	CaGaAtattacACcAtCC	53
33_21	CaGAatattacaccAtCC	0
33_22	CAGaaTattacaccatCC	0
33_23	CAGaaTattacaccAtCC	1
33_24	CAGaAtattacaccatCC	3
33_25	CAGaAtattacaccaTCC	61
33_26	CAGaAtAttacacCatCC	5
33_27	CAGaAtattacaccaTCC	8
33_28	CAGaAtattacaccAtCC	0
33_29	CAGaAaTattacaccatCC	0
33_30	CAGaAaTattacaccAtCC	1
33_31	CAGAAatattacaccatCC	13
33_32	CAGAAatattacAccatCC	1
33_33	CAGaAtattacaccatCC	10
34_1	GAATattacaccATCC	0
35_1	TCagaaTattacaccatCC	10
35_2	TCagaAtattacaccatCC	11
35_3	TCagaAtattacAccatCC	9
36_1	AGAAatattacacCATC	0
37_1	CAGAatattacaCCAT	0
38_1	CAattctcatttcaacCTTC	14
39_1	TCaattctcatttcaacCTT	35

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
40_1	ATCaattctcatttcaacCT	17
41_1	AATCaattctcatttcaACC	28
42_1	AAATcaattctcatttCAAC	38
43_1	CAAAtcaattctcattTCAA	22
44_1	TCAaatcaattctcatTTCA	0
45_1	CTCAaatcaattctcatTTC	6
46_1	ACTCaaatcaattctcATTT	5
47_1	AACTcaaatcaattctCATT	37
48_1	TAACTcaaatcaattcTCAT	20
49_1	TtaactCaaatcaattcTCA	46
49_2	TtaactCAaatcaattctCA	35
49_3	TtaactCAaatcaattcTCA	9
49_4	TtaacTCaaatcaattctCA	33
49_5	TtaacTCAaatcaattctCA	6
49_6	TtaaCtcaaatcaattCtCA	63
49_7	TtaaCtcaaatcaattCTCA	18
49_8	TtaaCtcaaatcaatTctCA	19
49_9	TtaaCtcaaatcaaTtctCA	80
49_10	TtaaCtcaaatcaaTtcTCA	26
49_11	TtaaCtcaaatcaaTtCtCA	30
49_12	TtaaCtcaaatcaaTtCTCA	18
49_13	TtaaCtcaaatcaaTTctCA	32
49_14	TtaaCtcaaatcAattcTCA	22
49_15	TtaaCtcAaatcaattcTCA	20
49_16	TtaaCtcAaatcaattCtCA	28
49_17	TtaaCtcAaatcaattCTCA	7
49_18	TtaaCtcAaatcaatTctCA	19
49_19	TtaaCtcAaatcaatTctCA	9
49_20	TtaaCtcAaatcaaTtctCA	33
49_21	TtaaCtcAaatcaaTtcTCA	13
49_22	TtaaCtcAaatcaaTtCtCA	16
49_23	TtaaCtcAaatcaaTtCTCA	12
49_24	TtaaCtcAaatcaaTTctCA	19
49_25	TtaaCtCaaatcaattctCA	33
49_26	TtaaCtCaaatcaattcTCA	14
49_27	TtaaCtCaaatcaattCtCA	17
49_28	TtaaCtCaaatcaattCTCA	7
49_29	TtaaCtCaaatcaatTctCA	7
49_30	TtaaCtCAaatcaattctCA	7
49_32	TtaaCtCAaatcaattCtCA	10
49_33	TtaaCtCAaatcaaTtctCA	10
49_34	TtaaCtCAaatcaaTtCtCA	6
49_35	TtaaCTCaaatcaattctCA	10
49_36	TtaaCTCaaatcaattCtCA	7
49_37	TtaaCTCAaatcaattctCA	4
49_39	TtaActcaaatcaatTctCA	24
49_40	TtaActcaaatcaaTtCtCA	26
49_41	TtaActcaaatcaaTtCTCA	17
49_42	TtaActcAaatcaattCtCA	33
49_43	TtaActcAaatcaatTctCA	11
49_44	TtaActcAaatcaaTtcTCA	15

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
49_45	TtaActcAaatcaaTtCtCA	24
49_46	TtaActCaaatcaattCtCA	20
49_47	TtaActCaaatcaattCTCA	6
49_48	TtaActCaaatcaatTtCtCA	6
49_49	TtaActCaaatcaattctCA	18
49_50	TtaActCaaatcaattCtCA	9
49_53	TtaActCaaatcaaTtctCA	12
49_54	TtaActCaaatcaaTtCtCA	6
49_55	TtaAcTCaaatcaattCtCA	7
49_56	TtaACtcaaatcaattCtCA	30
49_57	TtaACtcaaatcaattCTCA	7
49_58	TtaACtcaaatcaatTtCtCA	11
49_59	TtaACtcaaatcaaTtctCA	47
49_60	TtaACtcaaatcaaTtCtCA	18
49_61	TtaACtcaaatcaaTtCTCA	9
49_62	TtaACtcaaatcaaTTtCtCA	17
49_63	TtaACtcaaatcAattctCA	40
49_64	TtaACtcAaatcaattctCA	23
49_65	TtaACtcAaatcaattCtCA	13
49_67	TtaACtcAaatcaatTtCtCA	4
49_68	TtaACtcAaatcaaTtctCA	19
49_69	TtaACtcAaatcaaTtCtCA	12
49_70	TtaACtcAaatcaaTtCTCA	9
49_71	TtaACtcAaatcaaTTtCtCA	16
49_72	TtaACtCaaatcaattctCA	12
49_73	TtaACtCaaatcaattCtCA	9
49_74	TtaACtCaaatcaattCTCA	4
49_75	TtaACtCaaatcaatTtCtCA	4
49_76	TtaACtCAaatcaattctCA	3
49_78	TtaACtCAaatcaaTtctCA	3
49_79	TtaACTCaaatcaattCtCA	6
49_80	TtAactcaaatcaaTtCtCA	11
49_81	TtAactcaaatcaAttCtCA	35
49_82	TtAactcaaatcaAtTtCtCA	18
49_83	TtAactcaaatcaATtCtCA	21
49_84	TtAactcaaatcaATTtCtCA	36
49_85	TtAactcAaatcaatTtCtCA	7
49_86	TtAactcAaatcaaTtCtCA	6
49_87	TtAactCaaatcaattCtCA	19
49_88	TtAactCaaatcaattCTCA	7
49_89	TtAactCaaatcaatTtCtCA	6
49_90	TtAactCaaatcaattCtCA	9
49_92	TtAactCaaatcaaTtCtCA	3
49_93	TtAactCaaatcaaTTtCtCA	11
49_94	TtAaCtcaaatcaattCtCA	34
49_95	TtAaCtcaaatcaatTtCtCA	11
49_96	TtAaCtcaaatcaaTtctCA	56
49_97	TtAaCtcaaatcaaTtCtCA	15
49_98	TtAaCtcaaatcaaTtCTCA	14
49_99	TtAaCtcaaatcaaTTtCtCA	30
49_100	TtAaCtcaaatcAattctCA	46

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
49_101	TtAaCtcAaatcaattctCA	24
49_102	TtAaCtcAaatcaattCtCA	22
49_103	TtAaCtcAaatcaattCTCA	8
49_104	TtAaCtcAaatcaatTctCA	6
49_105	TtAaCtcAaatcaaTtctCA	28
49_106	TtAaCtcAaatcaaTtCtCA	31
49_107	TtAaCtcAaatcaaTtCTCA	29
49_108	TtAaCtcAaatcaaTTctCA	38
49_109	TtAaCtCaaatcaattctCA	21
49_110	TtAaCtCaaatcaattCtCA	19
49_111	TtAaCtCaaatcaatTctCA	9
49_112	TtAaCtCAaatcaattctCA	10
49_113	TtAaCtCAaatcaattCtCA	10
49_114	TtAaCtCAaatcaaTtctCA	6
49_115	TtAActcaaatcaatTctCA	6
49_116	TtAActcaaatcaaTtCtCA	9
49_117	TtAActcAaatcaattCtCA	11
49_118	TtAActcAaatcaatTctCA	3
49_119	TtAActcAaatcaaTtCtCA	11
49_120	TtAActCaaatcaattCtCA	33
49_121	TtAActCaaatcaatTctCA	2
49_123	TtAActCAaatcaatTctCA	1
49_125	TtAActcaaatcaattCtCA	6
49_126	TtAActcaaatcaattCTCA	5
49_127	TtAActcaaatcaatTctCA	9
49_128	TtAActcaaatcaaTtctCA	33
49_129	TtAActcaaatcaaTtCtCA	12
49_130	TtAActcaaatcaaTTctCA	19
49_131	TtAActcaaataattctCA	25
49_132	TtAActcAaatcaattctCA	15
49_133	TtAActcAaatcaattCtCA	6
49_134	TtAActcAaatcaatTctCA	10
49_135	TtAActcAaatcaaTtctCA	15
49_136	TtAActcAaatcaaTtCtCA	22
49_137	TtAActcAaatcaaTTctCA	33
49_138	TtAActCaaatcaattctCA	8
49_139	TtAActCaaatcaattCtCA	6
49_141	TtAActCaaatcaatTctCA	11
49_143	TtAActCAaatcaaTtctCA	3
49_144	TTaactcAaatcaattCtCA	14
49_145	TTaactcAaatcaatTctCA	6
49_146	TTaactcAaatcaaTtCtCA	6
49_147	TTaactcAaatcaaTTctCA	9
49_148	TTaactCAaatcaattCtCA	6
49_149	TTaactCAaatcaatTctCA	2
49_150	TTaaCtcaaatcaattCtCA	26
49_151	TTaaCtcaaatcaattCTCA	8
49_152	TTaaCtcaaatcaatTctCA	11
49_153	TTaaCtcaaatcaaTtctCA	41
49_154	TTaaCtcaaatcaaTtCtCA	14
49_155	TTaaCtcaaataattctCA	38

CMP ID NO	Compuesto	% de ARNm de MAPT de control
49_156	TTaaCtcAaatcaattctCA	23
49_157	TTaaCtcAaatcaattCtCA	13
49_158	TTaaCtcAaatcaattCTCA	4
49_159	TTaaCtcAaatcaatTctCA	6
49_160	TTaaCtcAaatcaaTtctCA	20
49_161	TTaaCtcAaatcaaTtCtCA	12
49_162	TTaaCtCaaatcaattctCA	18
49_163	TTaaCtCaaatcaattCtCA	10
49_164	TTaaCtCAaatcaattctCA	7
49_166	TTaActcaaatcaaTtCtCA	17
49_167	TTaActCaaatcaattCtCA	7
49_168	TTaActCAaatcaattCtCA	3
49_169	TTaACtcaaatcaaTtCtCA	12
49_170	TTaACtCAaatcaatTctCA	9
49_171	TTaACtCAaatcaaTtCtCA	25
49_172	TTaActcaaatcaaTtCtCA	16
49_173	TTaActcaaatcaAttCtCA	27
49_174	TTaActcaaatcaAtTctCA	14
49_175	TTaActCAaatcaatTctCA	5
49_176	TTaActCAaatcaaTtCtCA	6
49_177	TTaActCaaatcaattCtCA	15
49_178	TTaActCaaatcaattCTCA	4
49_180	TTaActCAaatcaattCtCA	6
49_181	TTAaCtcaaatcaattCtCA	23
49_182	TTAaCtcaaatcaaTtctCA	38
49_183	TTAaCtcaaatcaaTtCtCA	17
49_184	TTAaCtcaaatCAattctCA	40
49_185	TTAaCtcAaatcaattctCA	19
49_186	TTAaCtcAaatcaattCtCA	13
49_187	TTAaCtcAaatcaaTtctCA	13
49_188	TTAaCtCaaatcaattctCA	18
49_189	TTAActcaaatcaattCTCA	3
49_190	TTAActcaaatcaatTctCA	9
49_191	TTAActCAaatcaatTctCA	3
49_192	TTAActCaaatcaattCtCA	6
50_1	TTTAactcaaatcaatTCTC	1
51_1	TTTAactcaaatcaaTTCT	10
52_1	CCTTttaattcaTTAG	72
53_1	CAACaccttttaattcATTA	0
54_1	AACAccttttaattCATT	27
55_1	CAtcaacaccttttaaTTCA	100
56_1	CTCAatcaacaccttttaaTT	15
57_1	ACtcatcaacacctttTAAT	37
58_1	AACtcatcaacaccttTTAA	16
59_1	TAACtcatcaacacctttTA	18
60_1	TTAActcatcaacacctTTT	12
61_1	TTAactcatcaacacCTTT	4
62_1	TTAactcatcaacaCCTT	3
63_1	TTAActcatcaacACCT	0
64_1	GTTAactcatcaacACC	29
65_1	GTTAactcatcaaCAC	78

Ejemplo 3 valores de IC50 de oligonucleótidos seleccionados

LA IC50 de algunos de los oligonucleótidos con mejor rendimiento del Ejemplo 2 se determinó *in vitro* en células neuronales primarias mediante un ensayo de 96 cavidades.

Los cultivos de células neuronales primarias se prepararon según se describe en la sección “Materiales y método” y se colocaron en placas recubiertas con poli-D-lisina de 96 cavidades con 50.000 células por cavidad y se mantuvieron en medio Neurobasal que contenía B27, glutamax y penicilina-estreptomicina. Los ASO se diluyeron en agua (para determinaciones de IC50) y se agregaron a células 1 día después de la colocación en placas (DIV01). Para las determinaciones de IC₅₀, las neuronas se trataron con una concentración mayor de 0,5 a 5 μ M, y se usó una dilución de respuesta de concentración de aproximadamente 1:4 para definir la IC50. CMP ID NO: 66_1, que corresponde a ASO-001933 en WO2016/126995, se incluyó como un control positivo. Luego del tratamiento de los ASO, las neuronas se incubaron a 37 °C durante 5 días para lograr una reducción estable de ARNm. Se retiró el medio, y las células se lisaron como se indica a continuación. La medición del ARN mensajero lisado se llevó a cabo mediante el Sistema Reactivo Quantigene® 2.0 (Affymetrix®), que cuantifica el ARN usando un método de amplificación de señal de ADN ramificado que depende del kit de sondas de captura de ARN diseñado específicamente. La solución amortiguadora de lisis celular de trabajo se elaboró añadiendo 50 μ l de proteinasa K a 5 ml de mezcla de lisis precalentada y diluida hasta una dilución total 1:4 con dH₂O. El amortiguador de lisis de trabajo se agregó a la placa (150 μ l/cavidad), se trituró para mezclar, se selló y se incubó durante 30 min a 55 °C. Luego de la lisis, las cavidades se almacenaron a -80 °C o se ensayaron inmediatamente.

Los lisados se diluyeron en una mezcla de lisis que dependía de la sonda de captura específica que se había usado (tau o tubulina). Luego, se agregaron 80 μ l/cavidad en total a la placa de captura (placa de poliestireno de 96 cavidades recubierta con sondas de captura). Los reactivos de los kits de sondas de trabajo se generaron combinando 12,1 μ l de agua libre de nucleasa, 6,6 μ l de mezcla de lisis, 1 μ l de reactivo de bloqueo, 0,3 μ l de MATP humana del kit de sondas específico 2.0, catálogo #15486 y tubulina beta 3 de ratón, catálogo #SB-17245, según las instrucciones del fabricante (QUANTIGENE® 2.0 AFFYMETRIX®). Luego se agregaron 20 μ l de reactivos del kit de sondas de trabajo a 80 μ l de dilución de lisado (o 80 μ l de mezcla de lisis para muestras de fondo) en la placa de captura. Las placas se centrifugaron y luego se incubaron durante 16-20 horas a 55 °C para hibridar (captura del ARN diana). La amplificación de señal y la detección del ARN diana comenzaron con el lavado de las placas con amortiguador 3 veces para retirar el material sin unir. Se agregó reactivo de hibridación 2.0 Pre-Amplifier (100 μ l/cavidad), se incubó a 55 °C durante 1 hora y luego se aspiró, y se agregó amortiguador de lavado y se aspiró 3 veces. Luego se agregó el reactivo de hibridación 2.0 Amplifier según se describe (100 μ l/cavidad), se incubó durante 1 hora a 55 °C, y se repitió el lavado como se describió anteriormente. A continuación se agregó el reactivo

de hibridación 2.0 Label Probe (100 µl/cavidad), se incubó durante 1 hora a 50 °C, y se repitió el lavado como se describió anteriormente. Por último, las placas se centrifugaron para retirar cualquier exceso de amortiguador de lavado, y se agregó 2.0 Substrate (100 µl/cavidad). Las placas se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente, y las placas se visualizaron en un lector multidetector PerkinElmer Envision en modo luminómetro dentro de los 15 minutos.

Determinación de datos: Para el gen de interés, se sustrajo la señal de fondo de ensayo promedio de la señal promedio de cada réplica técnica. Las señales promedio con sustracción de fondo para el gen de interés se dividen por la señal promedio con sustracción de fondo para el ARN de tubulina *housekeeping*. El porcentaje de inhibición para la muestra tratada se calculó con relación a la muestra sin tratar (es decir, a menor valor, mayor inhibición). La variabilidad del fondo de las muestras sin tratar puede tener como resultado que el porcentaje de inhibición de una muestra tratada sea igual o superior al fondo y, en esos casos, el porcentaje de inhibición se expresa como 100 % inhibición de control (es decir, sin inhibición). Los resultados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7: IC50 de compuestos anti-MAPT

CMP ID NO	Compuesto	Región	IC50 (nM)
9_103	CTTTaatttaacacTCAT	A	12,2
11_1	CTTTaatttaacacCTCA	A	9,4
34_1	GAATattacaccATCC	A	32,0
37_1	CAGAatattacaCCAT	A	15,6
49_189	TTAActcaaactcaattCTCA	B	11,8
56_1	CTCAatcaacaccttttaaTT	C	44,0
62_1	TTAActcatcaacaCCTT	C	40,5
63_1	TTAActcatcaacaACCT	C	37,1
66_1	AtTTCcaaattcactTTtAC	-	44,3

Ejemplo 4 Tolerabilidad *in vivo* y reducción de ARNm de Tau *in vivo*

Algunos de los oligonucleótidos con mejor rendimiento del Ejemplo 2 se probaron *in vivo* en un ratón con Tau humanizada para evaluar la tolerabilidad en CNS y la reducción de ARNm de MAPT 3 días o 28 días después de una sola inyección.

A los ratones con Tau transgénica se les administraron 100 µg de ASO mediante inyección intracerebroventricular (ICV) (ver la sección Materiales y Método, ratón con Tau transgénica). CMP ID NO: 66_1, que corresponde a ASO-001933 en WO2016/126995, se incluyó como un control positivo. Se observaron los efectos secundarios sobre el comportamiento de los animales durante una hora posterior a la única inyección ICV de ASO. La tolerabilidad aguda para la gravedad de los efectos secundarios se evaluó en una escala de 0 (sin efectos secundarios) a 20 (convulsiones que dieron como resultado la eutanasia). La escala de tolerabilidad se dividió en categorías neuroconductuales: 1) hiperactividad, 2) disminución de la actividad y de la excitación, 3) disfunción motora/ataxia, 4) postura y respiración anormales, y 5) temblor/convulsiones. Cada categoría se puntuó en una escala de 0-4, de modo que el peor puntaje posible era 20. Se observaron los cambios

de comportamiento de los animales dentro de la jaula de alojamiento y luego se retiraron de la jaula de alojamiento para realizar observaciones más detalladas, que incluyeron la medición de la fuerza de agarre y el reflejo de enderezamiento. Los datos de la tolerabilidad aguda de los ASO de la invención se presentan en la Tabla 8.

La reducción del ARNm de MAPT en la región cortical frontal derecha se analizó mediante qPCR como se indica a continuación. El tejido cerebral de ratón recolectado (ver la sección Materiales y Método, ratón con Tau transgénica) se homogeneizó en un volumen de 10x de un amortiguador con alto contenido de sal/sacarosa (10 mM de Tris-HCl, pH 7,4, 800 mM de NaCl, 10 % de sacarosa (p/v), 1 mM de EGTA) enriquecido con los kits 2 y 3 de cóctel de inhibidor de fosfatasa, 1 mM de PMSF (Sigma, San Luis, MO), y cóctel inhibidor de la proteasa Complete libre de EDTA (Roche, Indianápolis, IN) usando un Quiagen TissueLyzer II. El homogeneizado se centrifugó a 20000 x g durante 20 minutos a 4 °C. El sobrenadante se centrifugó a 100.000 x g durante 1 hora a 4 °C.

Para la síntesis de cADN y la subsiguiente PCR, se añadieron 300 ng de ARN de los sobrenadantes del tejido cerebral a 1 cavidad de una placa de 96 cavidades (Axygen, PCR-96-C-S). A cada cavidad, se agregaron 7,5 µl de Master Mix (5 µl de mezcla de 2,5 mM de NTP y 2,5 µl de cebadores aleatorios por reacción), y la placa se centrifugó a 1000 rpm y se colocó en un termociclador durante 3 minutos a 70 °C. Las placas se enfriaron inmediatamente sobre hielo, y se agregaron 4 µl de Master Mix de reacción. Antes de la PCR, las placas se centrifugaron brevemente para recolectar muestras del fondo de las cavidades. La síntesis del cADN se llevó a cabo a 42 °C durante 60 min, 95 °C durante 10 min y luego se mantuvo a 4 °C. Las muestras de cADN se diluyeron en 1:3 con agua grado biología molecular y se almacenaron a -20 °C hasta su posterior uso.

Para la PCR, cada muestra se realizó en triplicado con dos kits de sondas (MAPT: Ensayos de expresión Taqman Hs00902193_m1; Ensayos de expresión Taqman de GAPDH Hs01922876_u1). A cada reacción, se agregaron 4 µl de cADN previamente disuelto y 6 µl de Master Mix, y las placas se centrifugaron. Las muestras se incubaron a 95 °C durante 20 segundos seguido de 40 ciclos a 95 °C durante 1 segundo y 60 °C durante 20 segundos.

Los datos se analizaron usando el método delta delta Ct en el cual, primero, cada muestra se normalizó a GAPDH y luego se expresó como un porcentaje de control sin tratar (porcentaje de inhibición). Si el porcentaje de inhibición era igual o superior al de las células de control, el porcentaje de inhibición se expresaba como 0 inhibición.

Tabla 8 Tolerabilidad aguda en ratones hTau y reducción de ARNm de MAPT 3 días y 4 semanas después del tratamiento *in vivo*

CMP ID NO	Compuesto	Región	Tolerabilidad aguda	% de ARNm de MAPT de solución salina	
				Día 3	4 semanas
9_103	CTTTaatttaacacTCAT	A	0,5	16	16
11_1	CTTTaatttaacacCTCA	A	0,0	16	18
9_104	CTTTaatttaacacCtCAT	A	0,25	NA	28
9_102	CTTtAATttaatcactcAT	A	1,75	NA	20
34_1	GAATattacaccATCC	A	0,0	36	20
9_91	CTtTAatttaacacCtCAT	A	0,50	NA	84
9_83	CTtTAATttaatcactcAT	A	0,75	NA	31
9_17	CtttaATttaatcactcAT	A	0,50	NA	65
9_88	CTtTAatttaacactcAT	A	0,50	NA	43
9_96	CTTtaATttaatcactcAT	A	2,50	NA	54
9_95	CTtTAATttaatcactcAT	A	4,13	NA	34
9_93	CTtTAAtttaacactcAT	A	1,88	NA	52
9_87	CTtTaATttaatcactcAT	A	1,63	NA	46
9_55	CtTTAaTttaatcactcAT	A	2,50	NA	54
37_1	CAGAatattacaCCAT	A	0,0	27	NA
49_189	TTAAactcaaatcaattCTCA	B	0,0	29	29
49_38	TtaaCTCAaatcaaTtctCA	B	1,50	NA	18
49_179	TTAAactCaaatcaatTctCA	B	1,0	NA	32
49_51	TtaActCAaatcaattCTCA	B	1,25	NA	31
49_124	TtAAactCAaatcaaTtctCA	B	1,50	NA	48
49_165	TTaaCtCAaatcaaTtctCA	B	0,88	NA	44
49_91	TtAAactCAaatcaatTctCA	B	0,63	NA	60
49_52	TtaActCAaatcaatTctCA	B	2,88	NA	56
49_140	TtAAactCaaatcaattCTCA	B	0,25	NA	43
49_66	TtaActcAaatcaattCTCA	B	0,0	NA	36
49_142	TtAAactCAaatcaattCtCA	B	0,5	NA	36
49_122	TtAAactCAaatcaattCtCA	B	0,75	NA	56
49_77	TtaActCAaatcaattCtCA	B	1,13	NA	55
50_1	TTTAactcaaatcaatTCTC	B	NA	26	NA
53_1	CAACacctttaattcATTA	C	NA	21	NA
56_1	CTCAatcaacacctttaTT	C	0,2	25	NA
62_1	TTAAactcatcaacaCCTT	C	0,0	39	28
63_1	TTAAactcatcaacaACCT	C	0,5	13	NA
66_1	AtTTCcaaattcactTTtAC	-	0,83	37	44

NA = no evaluado

Ejemplo 5: Eficacia *in vitro* en neuronas derivadas de células madre embrionarias humanas (hESC).

Los ASO seleccionados del Ejemplo 2 se evaluaron en tres concentraciones diferentes (200 nM, 8 nM y 0,32 nM) en un ensayo *in vitro* alternativo usando neuronas derivadas de células madre embrionarias humanas (hESC). Con fines comparativos, se incluyeron dos oligonucleótidos que actúan sobre MAPT del arte previo, a saber, CMP ID NO: 66_1 correspondiente a ASO-001933 en WO2016/126995 y CPM ID NO: 67:1 correspondiente al Compuesto N.º 814907 en WO2018/064593.

Cultivo y tratamiento con ASO de células madre embrionarias humanas (ESC):

Las células madre neurales (NSC) derivaron de ESC humanas de acuerdo con los procedimientos publicados (Chambers *et al.* 2009 Nat. Biotech. 7, 275–280). Las células madre neurales (NSC) proliferaron en progenitoras ventralizadas durante 1 semana en medio de SFA, y luego se diferenciaron para obtener neuronas en medio de BGAA durante 6 semanas. Para el contenido del medio, ver la sección Materiales y métodos.

Las células se sembraron a una densidad de 10.000 células/cm² en medio de N2B27 + SFA en un matraz recubierto con poliornitina y laminina. El medio se cambió el Día 4. Después de 7 días en medio de N2B27 + SFA, las células se tripsinizaron y se sembraron como progenitoras ventralizadas en medio N2B27+BGAA a una densidad de 50.000 células/cavidad en placas de 96 cavidades.

El medio se cambió dos veces por semana, y el tratamiento con ASO comenzó con el primer cambio de medio y continuó durante 6 semanas. Luego, las células se recolectaron como se describe a continuación.

Análisis de qPCR:

Las neuronas tratadas se recolectaron de la siguiente manera: se eliminó el medio, y luego se agregaron 125 µl de amortiguador de lisis PURELINK®Pro 96 y 125 µl de 70 % de etanol. El ARN se purificó de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se eluyó en un volumen final de 50 µl de agua, lo que produjo una concentración de ARN de 10-20 ng/µl. A continuación, el ARN se diluyó 10 veces en agua antes de la reacción qPCR en una etapa.

Para la etapa de qPCR en una etapa, la mezcla de qPCR (qScript™XLE 1-step RT-qPCR TOUGHMIX®Low ROX de QuantaBio) se mezcló con dos sondas Taqman en una relación 10:1:1 (mezcla de qPCR: sonda 1:sonda 2) para generar la Master Mix. La qPCR se llevó a cabo como réplicas técnicas, y las sondas Taqman se adquirieron de LifeTechnologies: MAPT_Hs00902193_m1; GAPDH 4325792 (gen *housekeeping* utilizado para normalización).

La Master Mix (6 µl) y ARN (4 µl, 1-2 ng/µl) luego se mezclaron en una placa de qPCR (MICROAMP® Optical de 384 cavidades, N.º de catálogo 4309849). Después de sellar la placa, la placa se hizo girar rápidamente, a 1000 g durante 1 minuto a RT, y se transfirió a un sistema ViiATM 7 (Applied Biosystems, Thermo). Se usaron las siguientes condiciones de PCR: 50 °C durante 15 minutos; 95 °C durante 3 minutos; 40 ciclos de: 95 °C durante 5 s, luego una disminución de temperatura de 1,6 °C/s, y luego 60 °C durante 45 s. Los datos se analizaron usando el software de PCR en tiempo real QuantStudio™. El porcentaje de inhibición para las muestras tratadas con ASO se calculó con respecto a las muestras tratadas con control (los valores bajos indican reducción alta de MAPT). Los resultados se muestran en la Tabla 9 como el promedio de las dos repeticiones técnicas.

Medición de proteína Tau y proteína pTau en neuronas de hESC:

Las células lavadas con PBS se extrajeron en un amortiguador que contenía un reactivo de extracción de proteínas Cytobuster (Merck-Millipore #71009), 1 % de cóctel de inhibidores de fosfatasa 3 (Sigma #P0044), 1 % de kit de inhibidores de proteasas III (Calbiochem #539134), 1 % de ADNasa-I (Roche # 4536282001) y 10 mM de $MgCl_2$. El extracto celular se lisó mediante pipeteo hacia arriba y hacia abajo y luego se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso.

Los niveles totales de Tau en los extractos celulares se midieron mediante AlphaLISA usando un formato de ensayo interno que comprende los anticuerpos específicos contra Tau 5A6 (ID del registro de anticuerpos DSHB: AB_528487) y el anticuerpo monoclonal contra Tau interno de Roche Tau 4/2. Este último anticuerpo se generó mediante inmunización de los ratones con Tau humana de longitud completa, es decir, la isoforma cerebral humana más larga, 441 aminoácidos. Tau 4/2 se fija a un epítipo del terminal C en Tau ubicado entre los aminoácidos 369 y 441. En síntesis, los extractos celulares se diluyeron en amortiguador de ensayo AlphaLISA Hi Block (PerkinElmer AL004C) y se mezclaron con microesferas aceptoras AlphaLISA recubiertas con Tau 4/2 y 5A6 biotinilada. Después de la incubación durante 1 h a temperatura ambiente, se agregaron a la mezcla microesferas donantes recubiertas con estreptavidina. Después de la incubación durante 30 min, las muestras se midieron en un lector de placas Envision (excitación 680 nm, emisión 615 nm). Se construyó una curva estándar usando Tau humana recombinante (Merck-Millipore #AG960).

Los niveles de FosfoTau (Tau-pS422) en los extractos celulares se midieron mediante AlphaLISA usando el formato de ensayo interno de Roche que comprende el anticuerpo específico contra Tau 5A6 (ID del registro de anticuerpos DSHB: AB_528487) y anticuerpo específico contra Tau pS422 5.6.11 (que se describe en WO2010/142423 y Collin *et al* 2014 Brain vol 137 P 2834-2846). Los extractos celulares se diluyeron en amortiguador de ensayo B antes del ensayo. El amortiguador B comprende 25 mM de HEPES, pH 7,4, 0,5 % de Triton X-100, 0,1 % de Top Block (LuBio Science), 1 mg/ml de Dextran500, 10 % de reactivo de bloqueo ELISA (Roche). Se preparó una curva estándar usando Tau fosforilada por ERK que se preparó de la siguiente manera: se produjo Tau humana recombinante como se describe en Grueninger *et al* (Neurobiology of Disease 37 [2010] pp294-306). La ERK2 recombinante etiquetada con His (que se produjo de manera interna) se activó mediante incubación con MEKK1 activada (que se produjo de manera interna). Luego, la ERK2 activada se incubó con Tau en una relación molar de 1:50 en amortiguador que contenía 2 mM de ATP. Posteriormente, ERK2 se retiró mediante pasaje sobre Ni-NTA agarosa (Qiagen). El alcance de la fosforilación en S422 se determinó posteriormente mediante espectroscopía de masa.

Los resultados se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9 Reducción de MAPT y reducción de proteína Tau en neuronas derivadas de hESC después del tratamiento en tres concentraciones diferentes.

CMP ID NO	MAPT como % de control			Proteína Tau total, % de control			Proteína PhosphoTau, % de control		
Conc. de ASO (nM)	200	8	0,32	200	8	0,32	200	8	0,32
9_104	5,4	36,6	100,9	7,0	40,3	88,3	0,6	12,0	54,0
9_103	1,2	15,6	71,8	1,8	23,2	66,2	0,1	19,8	92,9
11_1	1,0	12,5	72,3	1,5	25,9	65,1	0,1	17,5	70,4
49_38	5,7	36,3	83,5	6,8	45,5	79,6	1,3	51,6	116,6
49_189	7,0	36,5	90,2	10,4	48,1	102,9	5,0	59,6	137,3
53_1	4,8	32,9	79,4	8,8	45,7	79,0	3,1	48,6	127,6
66_1	11,0	40,2	81,9	10,9	48,4	69,9	3,6	57,9	94,2
9_102	2,0	34,9	99,0	3,0	44,3	87,4	0,3	37,7	113,8
49_179	10,5	53,6	96,4	12,4	70,7	91,7	3,5	76,0	112,0
49_51	6,7	39,8	76,1	5,9	60,2	92,2	1,3	68,2	161,6
56_1	2,8	36,8	93,2	3,6	49,3	96,6	0,3	37,9	111,9
62_1	4,5	38,6	86,2	5,8	48,4	88,1	1,5	47,8	119,0
67_1	31,1	57,0	86,0	35,9	58,4	79,2	26,2	65,8	115,5

Ejemplo 6: IC50 de compuestos seleccionados del Ejemplo 5

Una selección de ASO eficaces del Ejemplo 5 se evaluó en el mismo ensayo de neuronas derivadas de hESC junto con los dos controles del arte previo (CMP ID 66_1 y CMP ID 67_1) para determinar la IC50 de la reducción de ARNm diana, así como la reducción de proteína Tau.

El experimento se llevó a cabo como se describe en el Ejemplo 5 usando las siguientes concentraciones de oligonucleótido: 1000, 200, 40, 8, 1,6, 0,32, 0,064, 0,0128, 0,00256 nM.

Los valores de IC50 se ajustaron usando el software GraphPad PRISM. Los resultados se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10 IC50 y eficacia máx. (como % de control) con respecto a MAPT y proteína TAU

CMP ID NO	Compuesto	MAPT de IC50 (nM)	MAPT de eficacia máxima	TAU de IC50 (nM)	MAPT de eficacia máxima
9_103	CTTTaatttaacacTCAT	2,0	0,6	1,4	1,1
49_38	TtaaCTCAaatcaaTctCA	8,2	2,6	6,1	1,6
53_1	CAACacctttaattcATTA	7,6	1,7	15,0	1,9
66_1	AtTTCcaaattcactTTtAC	9,7	8,1	11,8	4,9
67_1	<u>CCoGTTTtcettacceeACoCCT</u>	17,7	22,6	43,3	23,4

A partir de estos datos, se observa que CMP ID NO 9_103 y 49_38 de la invención son más eficaces y tienen una mejor IC50 que los compuestos del arte previo en todo parámetro, mientras que CMP ID NO 53_1 parece tener una mejor inactivación máxima que los compuestos del arte previo y una IC50 similar a CMP ID NO: 66_1.

Ejemplo 7 Actividad *in vivo* en regiones específicas del cerebro de un ratón hTau

Una selección de los ASO del Ejemplo 5 se evaluaron para determinar su capacidad para reducir la diana *in vivo* en regiones específicas del cerebro de un ratón con Tau humanizada (ratón

hTau) cuatro semanas después de una sola administración ICV en dosis baja.

El ratón con Tau humanizada utilizado en este ejemplo es de una línea de ratón transgénico P301S de Tau interna de Roche que sobreexpresa Tau humana (isoforma cerebral humana más larga) con la mutación puntual P301S en un fondo de Tau de ratón.

A los ratones con Tau humanizada se les administraron 25 µg de ASO mediante inyección por vía intracerebroventricular (ICV) como se describe más adelante. CMP ID NO: 66_1, correspondiente a ASO-001933 en WO2016/126995, se incluyó con fines comparativos.

Evaluación ICV *in vivo* en ratón

Cuidado de animales:

Se mantuvieron animales de ambos sexos con un peso de 16-23 gramos en habitaciones de colonias a una temperatura (22 ± 2 °C) y humedad (55 ± 10 %) constantes y se iluminaron durante 12 horas por día (las luces se encendían a las 06:00). Todos los animales tenían acceso a alimentos y agua durante los estudios a demanda. Todos los protocolos de ratones fueron aprobados por el Comité nacional danés de ética en experimentos en animales.

Inyecciones intracerebroventriculares:

Los compuestos se administraron a ratones mediante inyecciones intracerebroventriculares (ICV). 6-8 ratones de ambos sexos se incluyeron en cada grupo de tratamiento. Antes de la dosis por vía ICV, los ratones se pesaron y se anestesiaron con isoflurano o propofol (30 mg/kg). Las inyecciones por vía intracerebroventricular se colocaron usando una microjeringa Hamilton con un catéter FEP equipado con una aguja de calibre 23 fija en una base ajustada para penetrar la distancia correcta (3,9 mm) a través de la piel y el cráneo y en el ventrículo lateral derecho. Se sujetó por la nuca al ratón que se deseaba inyectar con el pulgar y los primeros dedos de una mano. Con presión ligera pero firme, la cabeza se presionó hacia arriba para que la aguja se clave en el cráneo 1 a 2 mm a la derecha de la línea media (medio lateral) y 1 a 2 mm por detrás del ojo. El bolo de 5 µl del compuesto de prueba o vehículo se inyectó durante 30 segundos con una velocidad de infusión previamente determinada. Para evitar el reflujo, el ratón se sujetó en esta posición durante 5 segundos más antes de apartarlo cuidadosamente de la aguja. Este procedimiento no necesitó cirugía ni incisión. Los animales se colocaron bajo una lámpara de calor hasta que se recuperaron del procedimiento.

Al término del estudio (4 semanas), se recolectó tejido cerebral (corteza, bulbo raquídeo/protuberancia y mesencéfalo) sobre hielo seco para el análisis de proteína y ARNm de Tau.

Homogeneización tisular:

Las muestras de tejido cerebral de ratón se homogeneizaron en amortiguador de lisis tisular con aislamiento de ARN MagNA Pure LC (Roche, Indianápolis, IN) usando un Qiagen TissueLyzer II. Los homogeneizados se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente para una lisis completa. Después de la lisis, los homogeneizados se centrifugaron durante 3 minutos a 13000 rpm,

y el sobrenadante se usó para análisis.

Purificación de ARN del tejido:

ARN se purificó de 350 µl de sobrenadante usando el instrumento MagNA Pure 96 con el kit Cellular RNA Large Volume Kit (Roche, Indianápolis, IN). Las muestras de ARN se normalizaron a 2 ng/µl en agua libre de RNasa y se almacenaron a -20 °C hasta que se volvieron a usar. Los niveles de ARNm de MAPT se cuantificaron como se describe en el Ejemplo 5.

Medición de proteína Tau de tejido cerebral de ratón:

El tejido congelado previamente pesado se extrajo con 10 volúmenes (p/vol) de amortiguador de extracción que comprendía 10 mM de TrisCl, pH 7,4, 800 mM de NaCl, 1 mM de EGTA, 10 % de sacarosa, 1 % de cóctel de inhibidores de fosfatasa 3 (Sigma #P0044), 1 % de kit de inhibidores de proteasas III (Calbiochem #539134). Se preparó un homogeneizado usando el disruptor tisular PreCellys (20 s, 6500 rpm). Luego, el homogeneizado se centrifugó a 10'000xg durante 20 min a 4 °C, y el sobrenadante se retuvo para análisis.

Los niveles de Tau en los extractos se midieron mediante AlphaLISA usando el kit AlphaLISA de Tau total suministrado por Perkin Elmer (N.º de cat. AL271C). Los anticuerpos utilizados en este ensayo fueron BT2 y Tau-12 proporcionados con el kit, los cuales se fijan a la región central de Tau. Los extractos se diluyeron en amortiguador de ensayo HiBlock, y luego se usaron 5 µl de cada muestra en el ensayo. En todos los demás aspectos, el ensayo se llevó a cabo según descripción del fabricante.

Los resultados de la cuantificación de ARNm y proteína se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11: Eficacia *in vivo* en regiones seleccionadas del cerebro 4 semanas después de una única dosis ICV de 25 µg de ASO. Se muestran ARNm de MAPT como % de control para cuatro regiones del cerebro, y se muestra la proteína Tau como % de control para una región del cerebro.

CMP ID NO	mAR, % de control								Proteína, % de control	
	Corteza A1		Corteza A2		Bulbo raquídeo-protuberancia		Mesencéfalo		Corteza B2	
	Promedio	Estándar	Promedio	Estándar	Promedio	Estándar	Promedio	Estándar	Promedio	Estándar
9_10 4	74	12	77	14	68	19	65	18	73	18
9_10 3	80	13	80	10	66	17	64	12	69	16
11_1	58	12	62	15	54	16	48	19	63	11
49_3 8	63	12	67	9	55	18	49	16	76	15
49_1 89	75	5	70	10	54	4	55	6	84	13
53_1	80	10	93	7	81	12	81	16	101	11
66_1	94	20	98	6	101	4	99	11	112	8

A partir de estos datos, se observa que, incluso en la concentración bastante baja de 25 µg, se observa reducción de más de 20 % en la mayor parte de las regiones del cerebro para los compuestos de la invención, mientras que el compuesto de control prácticamente no muestra reducción de la diana en esta concentración.

Ejemplo 8 Respuesta a la dosis *in vivo* y transcurso del tiempo en el ratón hTau

La respuesta a la dosis de dos ASO (CMP ID NO: 9_103 y 49_189) se evaluó usando tres dosis diferentes (25, 50 y 100 µg), y la reducción diana se midió en regiones específicas del cerebro 1 semana y 4 semanas después de la administración. Con fines comparativos, se incluyeron dos compuestos del arte previo (CMP ID NO: 66_1_103 y 67_1) en algunas de las dosis en el estudio de una semana.

El experimento se llevó a cabo en gran medida según se describió en el Ejemplo 7. Sin embargo, la proteína Tau no se midió en el estudio de respuesta a la dosis que se llevó a cabo durante 1 semana debido a que la proteína Tau tiene una semivida superior a una semana. Los resultados se muestran en las Tablas 12 y 13.

Tabla 12 Eficacia *in vivo* en regiones seleccionadas del cerebro 1 semana después de una única dosis ICV a 25 µg, 50 µg o 100 µg de ASO o 4 semanas después de una única dosis de ICV a 100 µg de ASO. Se muestran ARNm de MAPT como % de control para cuatro regiones del cerebro.

Región del cerebro	Conc. de ASO en µg	CMP ID NO	9_103	49_38	66_1	67_1	9_103	49_38
		Tiempo	1 semana				4 semanas	
Corteza A1	25	Promedio	51	69	NA	NA	NA	NA
		Estándar	13	8	NA	NA	NA	NA
	50	Promedio	52	52	68	NA	NA	NA
		Estándar	12	14	14	NA	NA	NA
	100	Promedio	33	39	60	71	36	37
		Estándar	10	24	12	25	17	26
Corteza A2	25	Promedio	73	59	NA	NA	NA	NA
		Estándar	12	12	NA	NA	NA	NA
	50	Promedio	68	39	73	NA	NA	NA
		Estándar	15	7	8	NA	NA	NA
	100	Promedio	42	43	77	63	51	46
		Estándar	21	30	12	20	13	30
Mesencéfalo	25	Promedio	79	43	NA	NA	NA	NA
		Estándar	20	4	NA	NA	NA	NA
	50	Promedio	50	26	68	NA	NA	NA
		Estándar	14	6	11	NA	NA	NA
	100	Promedio	51	38	78	76	60	38
		Estándar	29	31	21	27	28	35
Bulbo raquídeo-protuberancia	25	Promedio	81	41		NA	NA	NA
		Estándar	21	6		NA	NA	NA

Región del cerebro	Conc. de ASO en µg	CMP ID NO	9_103	49_38	66_1	67_1	9_103	49_38
		Tiempo	1 semana				4 semanas	
	50	Promedio	57	26	70	NA	NA	NA
		Estándar	18	5	10	NA	NA	NA
	100	Promedio	58	37	80	82	61	40
		Estándar	34	31	23	28	29	33

NA = no evaluado

Tabla 13 Reducción *in vivo* de proteína Tau como % de control 4 semanas después de una única dosis ICV a 100 µg de ASO.

Región del cerebro	Corteza B1	
CMP ID NO	Promedio	Estándar
9_103	56	18
49_38	43	35

A partir de los datos en las Tablas 12 y 13, se observa que los compuestos de la invención tienen un rendimiento considerablemente mejor que los compuestos del arte previo, en particular cuando está en dosis de 100 µg. También se observa que la reducción de MAPT se mantuvo durante las 4 semanas. Asimismo, los compuestos de la invención muestran una reducción considerable de proteína Tau después de un tratamiento de 4 semanas con una única dosis de 100 µg de compuesto.