

CONJUGADOS DE ARNI Y USOS DE ESTOS

SOLICITUDES INTERRELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de EE. UU. con número de serie 63/157,465 presentada el 5 de marzo de 2021, y la solicitud de patente provisional de EE. UU. con número de serie 63/214,153, presentada el 23 de junio de 2021. Todo el contenido de las cuales se incorpora en la presente descripción mediante esta referencia.

CAMPO TÉCNICO

La descripción se refiere a oligonucleótidos u oligonucleótidos unidos a porciones de direccionamiento útiles en la inhibición, remisión y/o control del cáncer en pacientes. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a métodos para administrar a sujetos que lo necesitan una cantidad con eficacia terapéutica de uno o más oligonucleótidos de ARNi, o una o más moléculas de ARNi, que inhiben la expresión del transductor de señal y activador de la transcripción 3 (“STAT3”) en un sujeto.

ANTECEDENTES DE LA DESCRIPCIÓN

El crecimiento y la progresión del cáncer están influenciados por muchos factores, que incluyen el microentorno tumoral (“TME”), que contiene componentes que pueden controlar, influir o mejorar el desarrollo tumoral, que incluyen vasos sanguíneos, células inmunitarias, fibroblastos, células inflamatorias derivadas de la médula ósea, moléculas de señalización y la matriz extracelular (Yin y otros, INT J. CANCER (2019) 144(5):933-46). A pesar de la heterogeneidad existente de varios tumores, el desarrollo de un tumor depende en gran medida del estado fisiológico del TME. Aunque los tumores pueden proceder de diversas localizaciones anatómicas y/o poblaciones celulares, el propio tumor tendrá muchas características comunes que pueden usarse para derivar protocolos de tratamiento para el tumor. Esto es particularmente cierto para la maduración del TME de tumores derivados de epitelios. Las alteraciones genéticas en las células tumorales resultan en hiperplasia, crecimiento incontrolado, resistencia a la apoptosis y un cambio metabólico hacia la glicólisis anaeróbica (el denominado “efecto de Warburg”). Estos eventos crean

hipoxia, estrés oxidativo y acidosis dentro del TME, lo que desencadena un ajuste de la matriz extracelular (ECM) que rodea a las células alteradas o cancerosas, una respuesta de las células del estroma adyacentes (por ejemplo, fibroblastos) y células inmunitarias (linfocitos y macrófagos), lo que induce la angiogénesis y, en última instancia, provoca metástasis. El propio perfil del TME también afecta directamente a la eficacia de las terapias contra el cáncer (Giraldo y otros, BR. J. CANCER (2019) 120: 45-53).

Actualmente, la quimioterapia es la terapia líder contra el cáncer en todo el mundo, a menudo combinada con cirugía, o cirugía y radioterapia, en dependencia del tipo y estadio del tumor (Abbas y otros, AN OVERVIEW OF CANCER TREATMENT MODALITIES/INTECHOPEN, 2018). Desde el descubrimiento de numerosas mutaciones importantes que contribuyen a la carcinogénesis (por ejemplo, alteraciones de las células epidérmicas (Yamaoka y otros, INT. J. MOL. SCI. (2017) 18(11): 2420)) estas mutaciones y las proteínas que representan se han usado ampliamente como dianas para el desarrollo de fármacos más selectivos y combinaciones de fármacos para tratar a pacientes con cáncer. A pesar de la eficacia de estos fármacos, a menudo se observa resistencia a múltiples fármacos (MDR) en pacientes, lo que a menudo resulta en recaídas tumorales, opciones terapéuticas limitadas y baja calidad de vida para los pacientes. Además, la investigación del cáncer se ha centrado a menudo en las células tumorales, incluso aunque el efecto del TME y las células ‘normales’ o no cancerosas dentro de estos hayan demostrado desempeñar un papel clave en la progresión, el desarrollo y la MDR del tumor (Klemm y otros, TRENDS CELL BIOL (2015) 25(4): 198-213).

En una etapa tardía de desarrollo para un tumor sólido, el microentorno del tumor es muy complejo y heterogéneo (Runa y otros, CURR MOL BIOL REP (2017) 3(4): 218-29). La interacción entre las células cancerosas y las células adyacentes, que incluyen las células del estroma y del sistema inmunitario (que con frecuencia aparecen debido a la inflamación en la localización del tumor) resulta en alteraciones adicionales en el TME, así como también en los componentes celulares, la matriz extracelular y la formación de sistemas de vascularización, todos los cuales contribuyen a la metástasis del tumor (Runa y otros, CURR MOL BIOL REP (2017) 3(4): 218-29). Durante el crecimiento tumoral, las células cancerosas y los constituyentes del TME se adaptan continuamente a las condiciones del entorno, lo que influye en el crecimiento tumoral general. En consecuencia, se necesitan

terapias novedosas que se dirijan a diferentes facetas del TME que contribuyan al crecimiento tumoral.

BREVE SUMARIO DE LA DESCRIPCIÓN

El TME es un complejo sistema de vasos sanguíneos, células inmunitarias, fibroblastos, moléculas de señalización y la matriz extracelular que interactúa con el tejido tumoral. La progresión del tumor está influenciada por las interacciones de las células cancerosas con su entorno, que en última instancia determinan si el tumor primario se erradica, metastatiza o establece micrometástasis latentes. El TME también puede afectar a las respuestas terapéuticas y a la resistencia al fármaco o al tratamiento. Las células cancerosas debilitan las respuestas inmunitarias antitumorales y crean un entorno inmunosupresor. Por lo tanto, existe una necesidad continua de desarrollar agentes terapéuticos capaces de sobreponerse a este entorno inmunosupresor y/o sensibilizar a las células cancerosas a los agentes terapéuticos contra el cáncer para mejorar los resultados de los pacientes.

La presente descripción proporciona novedosos ácidos nucleicos, oligonucleótidos o análogos de estos que comprenden ligandos de direccionamiento tales como ligandos hidrófobos, que incluyen, pero no se limitan a, adamantilo y conjugados lipídicos, que son útiles para dirigirse a células inmunitarias en el TME para la intervención terapéutica. La presente descripción se refiere a conjugados ácido nucleico-ligando y conjugados oligonucleótido-ligando, que funcionan para modular la expresión de un gen diana en una célula (por ejemplo, una célula inmunitaria en un microentorno tumoral) y a los métodos de preparación y uso de estos. Sin desear estar atado a la teoría, la unión de porciones lipófilas/hidrófobas, tales como ácidos grasos y el grupo adamantilo, a estos ácidos nucleicos/oligonucleótidos altamente hidrófilos mejora sustancialmente la unión a proteínas plasmáticas y, en consecuencia, la semivida de circulación. Como se demuestra en la presente descripción, la incorporación de una porción hidrófoba tal como un lípido facilita el suministro sistémico de los novedosos ácidos nucleicos, oligonucleótidos o análogos de estos en las poblaciones de células inmunitarias en un microentorno tumoral.

Los conjugados ácido nucleico-ligando y los conjugados oligonucleótido-ligando adecuados incluyen moléculas inhibidoras de ácido nucleico, tales como moléculas inhibidoras de ARNbc, moléculas inhibidoras de ARNbc, oligonucleótidos antisentido,

miARN, ribozimas, antagómiros, aptámeros y moléculas inhibidoras de ARNi monocatenarias. En algunos aspectos, la presente descripción proporciona conjugados lipídicos de ácido nucleico, conjugados lipídicos de oligonucleótido y análogos de estos, que encuentran utilidad como moduladores de los niveles de ARN intracelular. Las moléculas inhibidoras de ácido nucleico de la descripción modulan la expresión de ARN a través de un conjunto diverso de mecanismos, por ejemplo, mediante interferencia de ARN (ARNi). Una ventaja de los conjugados ácido nucleico-ligando, conjugados oligonucleótido-ligando y análogos de estos proporcionados en la presente descripción es que es posible una amplia variedad de actividades farmacológicas, consistente con la modulación de los niveles de ARN intracelular. Además, la descripción proporciona métodos para usar una cantidad eficaz de los conjugados descritos en la presente descripción para el tratamiento o mejora de una afección de enfermedad a través de modular los niveles de ARN intracelular.

En algunos aspectos, la presente descripción se refiere a conjugados oligonucleótido-ligando que comprenden una o más unidades de conjugado de ligando de ácido nucleico que modulan la expresión génica de una diana en una célula inmunitaria en el microentorno tumoral mediante interferencia de ARN (ARNi). En algunos aspectos, la presente descripción se refiere a conjugados oligonucleótido-ligando que comprenden uno o más ligandos de porciones hidrófobas, que incluyen, pero no se limitan a, porciones lipídicas, que modulan (por ejemplo, reducen o inhiben) la expresión génica de una diana en una célula inmunitaria en el microentorno tumoral, composiciones de dichos conjugados oligonucleótido-ligando, y métodos de preparación y usos de estos. En algunos aspectos, los conjugados oligonucleótido-ligando se dirigen a un gen que codifica un regulador de inmunosupresión, de manera que la reducción o inhibición de la expresión del regulador se sobrepone a un microentorno tumoral inmunosupresor. En algunas modalidades, la reducción o inhibición de la expresión del regulador induce o mejora una respuesta inmunitaria antitumoral.

La presente descripción se basa, al menos en parte, en el descubrimiento de conjugados oligonucleótido-ligando que reducen eficazmente la expresión génica de una diana en células inmunitarias presentes dentro de un microentorno tumoral. Sin estar atado a la teoría, como se describió en la presente descripción, una porción hidrófoba (por ejemplo,

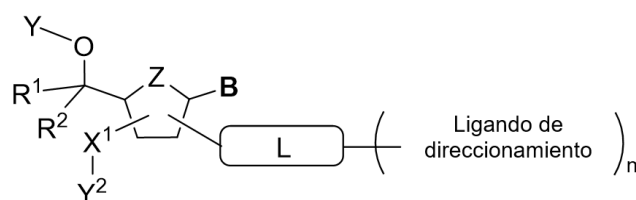
lípidos) facilita el suministro y la distribución de un conjugado lipídico de oligonucleótido de ARNi en células inmunitarias, tales como las que expresan receptores de tráfico lipídico, del microentorno tumoral, aumentando de esta manera la eficacia y durabilidad de la inactivación génica. En consecuencia, la descripción proporciona métodos para tratar el cáncer y/o reducir el crecimiento tumoral mediante la modulación de la expresión génica de una diana, por ejemplo, de un gen que codifica un regulador de inmunosupresión, en células inmunitarias dentro de un microentorno tumoral mediante la administración de los conjugados oligonucleótido-ligando de la descripción, y composiciones farmacéuticamente aceptables de estos, como se describió en la presente descripción. La descripción proporciona además métodos para usar los conjugados oligonucleótido-ligando en la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer y/o reducir el crecimiento tumoral mediante la modulación de la expresión génica de la diana en células inmunitarias en un microentorno tumoral.

En algunos aspectos, la descripción proporciona un método para tratar, mejorar o prevenir el cáncer, y/o prevenir la metástasis del cáncer en un sujeto que lo necesita. La descripción proporciona además moléculas de oligonucleótidos de ARNi que pueden limitar, controlar o eliminar la expresión de genes clave asociados con el cáncer y/o un microentorno tumoral inmunosupresor. Tales moléculas de oligonucleótidos de ARNi son una variedad de oligonucleótidos de ARNi bicatenarios que se dirigen al transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3). En determinadas modalidades, el método comprende administrar al sujeto una cantidad con eficacia terapéutica de una composición que inhibe la expresión o actividad de STAT3 en el sujeto. Tales moléculas de oligonucleótidos de ARNi se usan para tratar a un sujeto que tiene cáncer y patologías asociadas y pueden beneficiar terapéuticamente de esta manera a un sujeto que padece de carcinoma, sarcoma, melanoma, linfoma y leucemia, cáncer de próstata, cáncer de mama, carcinoma hepatocelular (HCC), cáncer colorrectal y glioblastoma.

El STAT3 es un factor de transcripción importante que es crucial para el mantenimiento de la carcinogénesis y para la quimiorresistencia a los agentes contra el cáncer. El STAT3 se encuentra en el citoplasma y se activa en respuesta a los estímulos de las citocinas. El STAT3 activado regula la transcripción de genes que controlan la supervivencia y la proliferación celular y regula la expresión de genes de respuesta antiapoptótica e

inmunitaria. La activación constitutiva de STAT3 es necesaria para la proliferación y la supervivencia de diferentes cánceres (Groner, B. y otros, SEMINARS IN CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Vol. 19(4): 341-50 (2008)). La activación de STAT-3 proporciona una ventaja para la supervivencia de las células cancerosas. Al igual que NF- κ B, se ha demostrado que la inhibición de STAT-3 en diferentes tipos de cáncer induce la apoptosis y la quimiosensibilización de las células (da Hora, C.C. y otros, CELL DEATH DISCOV, Vol. 5(72) <https://doi.org/10.1038/s41420-019-0155-9> (2019)). La secuencia del ARNm de STAT3 humano (NM_001369512.1) se expone como la SEQ ID NO: 85 o la SEQ ID NO: 1217 (NM_139276.3).

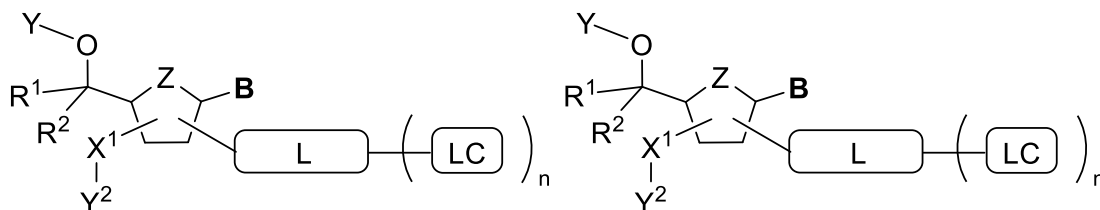
En consecuencia, en un aspecto, la descripción proporciona un conjugado oligonucleótido-ligando que comprende una secuencia de nucleótidos que reduce la expresión de un ARNm diana en una célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral y uno o más ligandos de direccionamiento, en donde uno o más nucleósidos de la secuencia de nucleótidos conjugada con uno o más ligandos de direccionamiento se representan por la fórmula I-a:



I-a;

o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, en donde cada variable es como se define y se describe en la presente descripción.

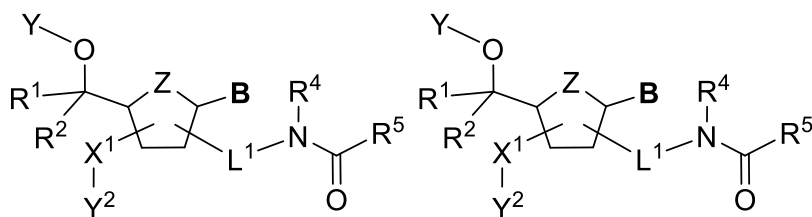
En otro aspecto, la presente descripción proporciona un conjugado oligonucleótido-ligando que comprende una secuencia de nucleótidos que reduce la expresión de un ARNm diana en una célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral y uno o más ligandos de direccionamiento, en donde uno o más nucleósidos de la secuencia de nucleótidos conjugada con uno o más ligandos de direccionamiento se representan por la fórmula II-a:



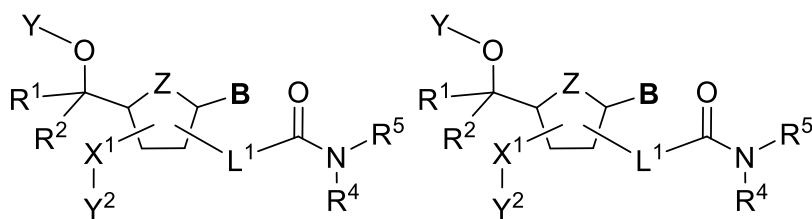
II-a.

o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, en donde cada variable es como se define y se describe en la presente descripción.

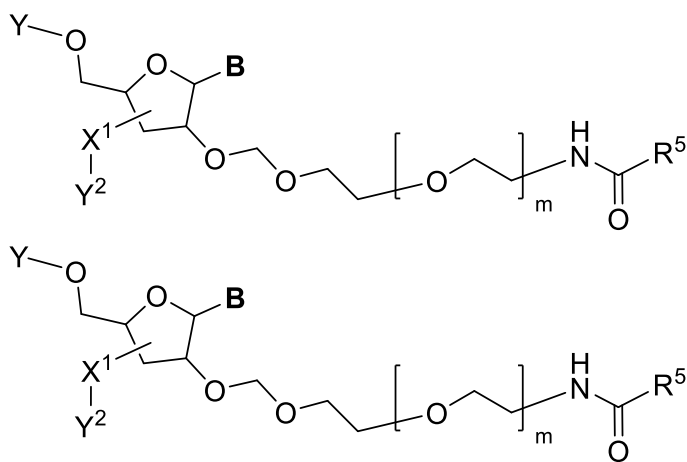
En determinadas modalidades, los conjugados oligonucleótido-ligando se representan por la fórmula II-b, II-c, II-Ib o II-Ic:



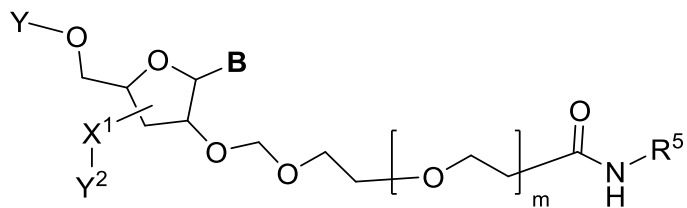
II-b

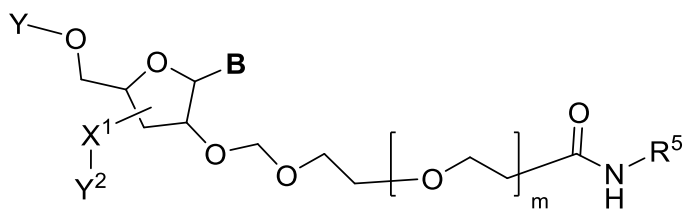


II-c



II-Ib



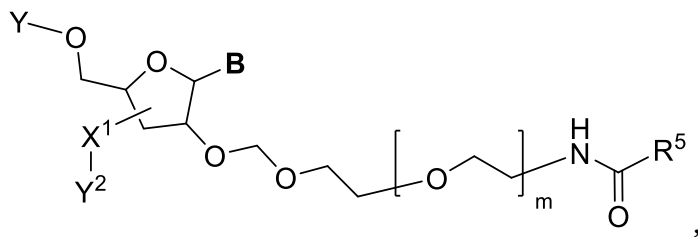


II-Ic

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, R^5 es una cadena hidrocarbonada C1-C50 saturada o insaturada, lineal o ramificada. En algunos aspectos, R^5 es una cadena hidrocarbonada C8-C30 saturada o insaturada, lineal o ramificada. En algunos aspectos, R^5 es una cadena hidrocarbonada C16 saturada o insaturada, lineal o ramificada. En algunos aspectos, R^5 es una cadena hidrocarbonada C18 saturada o insaturada, lineal o ramificada.

En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende una hebra antisentido de 15 a 30 nucleótidos y una hebra sentido de 15 a 40 nucleótidos, en donde las hebras sentido y antisentido forman una región híbrida, en donde la hebra antisentido comprende una región de complementariedad con una secuencia diana expresada en una célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral, en donde la hebra sentido comprende en su extremo 3' una estructura de tallo y lazo que comprende un tetralazo que comprende 4 nucleósidos, en donde uno o más de los 4 nucleósidos conjugados con el ligando de direccionamiento se representan mediante la fórmula II-Ib:



en donde B se selecciona de una nucleobase de adenina y guanina, y en donde R^5 es una cadena hidrocarbonada. En algunos aspectos, en donde los 4 nucleósidos del tetralazo están enumerados 1-4 de 5' a 3', y en donde la posición 1 se representa por la fórmula II-Ib. En otros aspectos, la posición 2 se representa por la fórmula II-Ib. Aun en otros aspectos, la posición 3 se representa por la fórmula II-Ib. En aspectos adicionales, la posición 4 se representa por la fórmula II-Ib.

En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, el ARNm diana codifica un

regulador de la inmunosupresión. En algunos aspectos, el regulador de la inmunosupresión es un polipéptido inhibidor del punto de control. En algunos aspectos, el regulador de la inmunosupresión es un factor de transcripción.

En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, la célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral es una célula mieloide. En algunos aspectos, la célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral es un linfocito T. En algunos aspectos, la secuencia de nucleótidos reduce la expresión del ARNm diana en más de una célula inmunitaria asociada con el microentorno tumoral. En algunos aspectos, la célula inmunitaria es una célula mieloide o un linfocito T. En algunos aspectos, la célula mieloide es una célula supresora de origen mieloide (MDSC). En algunos aspectos, la MDSC es una MDSC granulocítica (G-MDSC) o una MDSC monocítica (M-MDSC). En algunos aspectos, la secuencia de nucleótidos reduce la expresión del ARNm diana en G-MDSC y M-MDSC. En algunos aspectos, el linfocito T es un linfocito T CD8⁺ o un linfocito Treg.

En algunos aspectos, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende un oligonucleótido monocatenario. En algunos aspectos, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende un oligonucleótido bicatenario. En algunos aspectos, el oligonucleótido bicatenario comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que forman una región híbrida, en donde la hebra antisentido comprende una región de complementariedad con el ARNm diana en la célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral.

En otro aspecto, la presente descripción proporciona moléculas de oligonucleótidos de ARNi capaces de inhibir la expresión de STAT3. Tales moléculas pueden usarse solas o en combinación con un segundo agente terapéutico y pueden variar en la dosificación. En algunas modalidades, tales moléculas de oligonucleótidos de ARNi se componen de una hebra sentido y una hebra antisentido que forman una región bicatenaria.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra antisentido de 15 a 30 nucleótidos de longitud y una hebra sentido de 15 a 40 nucleótidos de longitud, en donde la hebra sentido y la hebra antisentido forman una región híbrida, en donde la hebra antisentido tiene una región de complementariedad con una secuencia diana del ARNm de *STAT3* como se expone en la SEQ ID NO: 85 o SEQ ID NO: 1217, y en donde la región de complementariedad es de al menos 15 nucleótidos contiguos de longitud que difiere en no más de 3 nucleótidos de la secuencia diana. En algunos

aspectos, la región de complementariedad es totalmente complementaria a una secuencia diana de *STAT3*.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de *STAT3* comprende una región de complementariedad de al menos 15 nucleótidos contiguos de longitud con una secuencia diana seleccionada de las SEQ ID NO: 89-280. En algunos aspectos, la región de complementariedad se selecciona de las SEQ ID Nos: 89-280.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de *STAT3* comprende:

(i) una hebra antisentido de 19-30 nucleótidos de longitud, en donde la hebra antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que comprende una región de complementariedad con una secuencia diana del ARNm de *STAT3*, en donde la región de complementariedad se selecciona de las SEQ ID NO: 89-280, y

(ii) una hebra sentido de 19-50 nucleótidos de longitud que comprende una región de complementariedad con la hebra antisentido, en donde las hebras antisentido y sentido son hebras separadas que forman una región híbrida asimétrica que tiene un saliente de 1-4 nucleótidos en el extremo terminal 3' de la hebra antisentido.

En algunos aspectos, la hebra sentido comprende al menos 15 nucleótidos contiguos que difieren en no más de 3 nucleótidos de una cualquiera de las secuencias de nucleótidos de las SEQ ID NO: 9, 37, 65 o 69, y la hebra antisentido comprende al menos 15 nucleótidos contiguos que difieren en no más de 3 nucleótidos de las secuencias de nucleótidos de las SEQ ID NO: 10, 38, 66 o 70. En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de *STAT3* comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende las secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 9 y 10, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 37 y 38, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 65 y 66, respectivamente; y,
- (d) SEQ ID NO: 69 o 70, respectivamente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de *STAT3* comprende una hebra sentido que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de las SEQ ID NO: 857-946.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de *STAT3* comprende una hebra antisentido que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de las

SEQ ID NO: 947-1036.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende las secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 861 y 951, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 857 y 947, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 858 y 948, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 859 y 949, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 860 y 950, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 862 y 952, respectivamente;
- (g) SEQ ID NO: 863 y 953, respectivamente;
- (h) SEQ ID NO: 864 y 954, respectivamente;
- (i) SEQ ID NO: 865 y 955, respectivamente;
- (j) SEQ ID NO: 866 y 956, respectivamente;
- (k) SEQ ID NO: 867 y 957, respectivamente;
- (l) SEQ ID NO: 868 y 958, respectivamente;
- (m) SEQ ID NO: 869 y 959, respectivamente;
- (n) SEQ ID NO: 870 y 960, respectivamente;
- (o) SEQ ID NO: 871 y 961, respectivamente;
- (p) SEQ ID NO: 872 y 962, respectivamente;
- (q) SEQ ID NO: 873 y 963, respectivamente;
- (r) SEQ ID NO: 874 y 964, respectivamente;
- (s) SEQ ID NO: 875 y 965, respectivamente;
- (t) SEQ ID NO: 876 y 966, respectivamente;
- (u) SEQ ID NO: 877 y 967, respectivamente;
- (v) SEQ ID NO: 878 y 968, respectivamente;
- (w) SEQ ID NO: 879 y 969, respectivamente;
- (x) SEQ ID NO: 880 y 970, respectivamente;
- (y) SEQ ID NO: 881 y 971, respectivamente;
- (z) SEQ ID NO: 882 y 972, respectivamente;
- (aa) SEQ ID NO: 883 y 973, respectivamente;

- (bb) SEQ ID NO: 884 y 974, respectivamente;
- (cc) SEQ ID NO: 885 y 975, respectivamente;
- (dd) SEQ ID NO: 886 y 976, respectivamente;
- (ee) SEQ ID NO: 887 y 977, respectivamente;
- (ff) SEQ ID NO: 888 y 978, respectivamente;
- (gg) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (hh) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente; y
- (ii) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende las secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende las secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende las secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 862 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 952.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 875 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 965.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 876 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 966.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 920 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 966.

En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, la hebra antisentido es de 19 a 27 nucleótidos de longitud o de 21 a 27 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la hebra antisentido es de 22 nucleótidos de longitud.

En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, la hebra sentido es de 19 a 40 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la hebra sentido es de 36 nucleótidos de longitud.

En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, el oligonucleótido tiene una región híbrida de al menos 19 nucleótidos de longitud. En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, el oligonucleótido tiene una región híbrida de al menos 21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la región híbrida es de 20 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, la región de complementariedad de *STAT3* es de al menos 19 nucleótidos contiguos de longitud. En algunas modalidades, la región de complementariedad de *STAT3* es de al menos 21 nucleótidos contiguos de longitud.

En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, el oligonucleótido comprende en la hebra sentido en su extremo 3' una estructura de tallo y lazo que se expone como: S1-Lazo-S2, en donde S1 es complementaria a S2, y en donde el Lazo forma un lazo entre S1 y S2 de 3 a 5 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 para tratar o prevenir el cáncer, y/o prevenir la metástasis del cáncer, comprende una hebra antisentido

y una hebra sentido, en donde la hebra antisentido es de 21 a 27 nucleótidos de longitud y tiene una región de complementariedad con una secuencia del ARNm diana de *STAT3* que se expone en la SEQ ID NO: 85 o la SEQ ID NO: 1217, en donde la hebra sentido comprende en su extremo 3' una estructura de tallo y lazo que se expone como: S1-Lazo-S2, en donde S1 es complementaria a S2, y en donde el Lazo forma un lazo entre S1 y S2 de 3 a 5 nucleótidos de longitud, y en donde la hebra antisentido y la hebra sentido forman una estructura híbrida de al menos 19 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, el Lazo es un tetralazo. En algunas modalidades, el Lazo es de 4 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el Lazo comprende una secuencia GAAA.

En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una hebra antisentido que es de 27 nucleótidos de longitud y una hebra sentido que es de 25 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una hebra antisentido que es de 22 nucleótidos de longitud y una hebra sentido que es de 36 nucleótidos de longitud.

En cualquiera de los aspectos anteriores o relacionados, la región híbrida del oligonucleótido de la presente descripción comprende una secuencia saliente 3' en la hebra antisentido. En algunas modalidades, la secuencia saliente 3' en la hebra antisentido es de 2 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia saliente 3' es GG.

En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una hebra antisentido y una hebra sentido que están ambas en el intervalo de 21 a 23 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una estructura híbrida en un intervalo de 19 a 21 nucleótidos de longitud. En algunas de tales modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia saliente 3' de uno o más nucleótidos de longitud, en donde la secuencia saliente 3' está presente en la hebra antisentido, la hebra sentido, o en la hebra antisentido y en la hebra sentido. En algunas modalidades, la secuencia saliente 3' es de 2 nucleótidos de longitud, en donde la secuencia saliente 3' está en la hebra antisentido, y en donde la hebra sentido es de 21 nucleótidos de longitud y la hebra antisentido es de 23 nucleótidos de longitud, de manera que la hebra sentido y la hebra antisentido forman un híbrido de 21 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende al menos un nucleótido modificado. En algunas modalidades, el nucleótido modificado comprende una modificación en 2'. En

algunas modalidades, todos los nucleótidos del oligonucleótido se modifican, por ejemplo, con una modificación 2'. En algunas modalidades, aproximadamente el 10-15 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 % o 15 % de los nucleótidos de la hebra sentido comprenden una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades, aproximadamente el 25-35 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 31 %, 32 %, 33 %, 34 % o 35 % de los nucleótidos de la hebra antisentido comprenden una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades aproximadamente el 25-35 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 31 %, 32 %, 33 %, 34 % o 35 % de los nucleótidos del oligonucleótido comprenden una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades, la hebra sentido comprende 36 nucleótidos con las posiciones 1-36 de 5' a 3', en donde las posiciones 8-11 comprenden una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades, la hebra antisentido comprende 22 nucleótidos con las posiciones 1-22 de 5' a 3', y en donde las posiciones 2, 3, 4, 5, 7, 10 y 14 comprenden una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades, los nucleótidos restantes comprenden una modificación 2'-O-metilo.

En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleotídico modificado, preferentemente un enlace fosforotioato.

En algunas modalidades, el carbono 4' del azúcar del nucleótido 5' de la hebra antisentido comprende un análogo de fosfato, por ejemplo, un oximetilfosfonato, vinilfosfonato o malonil fosfonato.

En algunas modalidades, al menos un nucleótido del oligonucleótido se conjuga con uno o más ligandos de direccionamiento, tales como un carbohidrato, aminoazúcar, colesterol, polipéptido o lípido.

En algunas modalidades, el ligando de direccionamiento es una porción de ácido graso saturado. En algunas modalidades, la porción de ácido graso saturado varía en longitud de C10 a C24. En algunas modalidades, la porción de ácido graso saturado tiene una longitud de C16. En algunas modalidades, la porción de ácido graso saturado tiene una longitud de C18. En algunas modalidades, la porción de ácido graso saturado tiene una longitud de C22.

En algunas modalidades, el ligando de direccionamiento comprende una porción N-acetilgalactosamina (GalNAc). En algunas modalidades, la porción (GalNAc) comprende una porción GalNAc monovalente, una porción GalNAc bivalente, una porción GalNAc

trivalente o una porción GalNAc tetravalente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende las secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1041 y 1131, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1037 y 1127, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 1038 y 1128, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 1039 y 1129, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 1040 y 1130, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 1042 y 1132, respectivamente;
- (g) SEQ ID NO: 1043 y 1133, respectivamente;
- (h) SEQ ID NO: 1044 y 1134, respectivamente;
- (i) SEQ ID NO: 1045 y 1135, respectivamente;
- (j) SEQ ID NO: 1046 y 1136, respectivamente;
- (k) SEQ ID NO: 1047 y 1137, respectivamente;
- (l) SEQ ID NO: 1048 y 1138, respectivamente;
- (m) SEQ ID NO: 1049 y 1139, respectivamente;
- (n) SEQ ID NO: 1050 y 1140, respectivamente;
- (o) SEQ ID NO: 1051 y 1141, respectivamente;
- (p) SEQ ID NO: 1052 y 1142, respectivamente;
- (q) SEQ ID NO: 1053 y 1143, respectivamente;
- (r) SEQ ID NO: 1054 y 1144, respectivamente;
- (s) SEQ ID NO: 1055 y 1145, respectivamente;
- (t) SEQ ID NO: 1056 y 1146, respectivamente;
- (u) SEQ ID NO: 1057 y 1147, respectivamente;
- (v) SEQ ID NO: 1058 y 1148, respectivamente;
- (w) SEQ ID NO: 1059 y 1149, respectivamente;
- (x) SEQ ID NO: 1060 y 1150, respectivamente;
- (y) SEQ ID NO: 1061 y 1151, respectivamente;
- (z) SEQ ID NO: 1062 y 1152, respectivamente;
- (aa) SEQ ID NO: 1063 y 1153, respectivamente;

- (bb) SEQ ID NO: 1064 y 1154, respectivamente;
- (cc) SEQ ID NO: 1065 y 1155, respectivamente;
- (dd) SEQ ID NO: 1066 y 1156, respectivamente;
- (ee) SEQ ID NO: 1067 y 1157, respectivamente;
- (ff) SEQ ID NO: 1068 y 1158, respectivamente;
- (gg) SEQ ID NO: 1120 y 1210, respectivamente;
- (hh) SEQ ID NO: 1076 y 1166, respectivamente; y
- (ii) SEQ ID NO: 1100 y 1190, respectivamente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende las secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1081 y 1171, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1090 y 1180, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 1079 y 1169, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 1076 y 1166, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 1072 y 1162, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 1070 y 1160, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 1069 y 1159, respectivamente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende las secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1120 y 1210, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1117 y 1207, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 1119 y 1209, respectivamente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende las secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1095 y 1185, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1104 y 1194, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 1093 y 1183, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 1100 y 1190, respectivamente.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1042 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1132.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1055 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1145.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1056 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1146.

En algunos aspectos, un oligonucleótido para reducir la expresión de STAT3 comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1100 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1190.

En algunas modalidades, el ligando de direccionamiento se conjugan con uno o más nucleótidos del Lazo de la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, hasta 4 nucleótidos del Lazo de la estructura de tallo y lazo se conjugan cada uno con una porción GalNAc monovalente.

En algunas modalidades, los oligonucleótidos de la presente descripción son oligonucleótidos de ARNi.

En algunas modalidades, la descripción de la presente descripción es una composición farmacéutica que comprende uno o más oligonucleótidos y portadores, agentes de suministro o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En algunos aspectos, el oligonucleótido de la presente descripción se proporciona en forma de un kit para tratar un cáncer. En un aspecto adicional, el oligonucleótido de la presente descripción se proporciona en forma de un kit para tratar una enfermedad, trastorno o afección asociada con la expresión de STAT3. En algunas modalidades, el kit comprende un oligonucleótido descrito en la presente descripción y un portador farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, el kit incluye además un prospecto que comprende instrucciones para la administración del oligonucleótido a un sujeto que tiene un cáncer. En algunas modalidades, el kit incluye además un prospecto que comprende instrucciones para la administración del oligonucleótido a un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociada con la expresión de STAT3.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un método para suministrar un oligonucleótido a un sujeto, el método comprende administrar una composición farmacéutica a un sujeto. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un método para suministrar un oligonucleótido a una célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral, que comprende administrar un conjugado oligonucleótido-ligando descrito en la presente descripción.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se suministra las células asociadas al tumor. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se suministra a las células inmunitarias. En algunas modalidades, las células inmunitarias son células supresoras de origen mieloide (MDSC). En algunas modalidades, las células inmunitarias son linfocitos T.

En algunas modalidades, el oligonucleótido descrito en la presente descripción se dirige a *STAT3*. En algunas modalidades, el oligonucleótido se dirige a *STAT3* y el ARNip modula además la expresión del ARNm de PD-L1.

En algunos aspectos, la presente descripción proporciona un método para reducir la expresión de un ARNm diana en una célula, una población de células asociadas con un microentorno tumoral en un sujeto, mediante la administración de un oligonucleótido de la descripción. En otro aspecto, la presente descripción proporciona un método para reducir la expresión de *STAT3* en una célula, una población de células o un sujeto, mediante la administración de un oligonucleótido de la descripción. En algunas modalidades, un método para reducir la expresión de *STAT3* en una célula, una población de células o un sujeto comprende la etapa de: poner en contacto la célula o la población de células o administrar al sujeto una cantidad eficaz de un oligonucleótido u oligonucleótidos descritos en la presente descripción o una composición farmacéutica de estos. En algunas modalidades, el método para reducir la expresión de *STAT3* comprende reducir una cantidad o un nivel del ARNm de *STAT3* y de *PD-L1*, una cantidad o un nivel de proteína *STAT3* y de *PD-L1*, o ambos.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un producto farmacéutico para usar como agente terapéutico. En algunas modalidades, un agente terapéutico se administra como monoterapia y es un inhibidor de la expresión de *STAT3*.

En algunas modalidades, se proporciona un método para tratar a sujetos humanos que son

resistentes a la terapia anti-PD1 o anti-PD-L1 que comprende administrar uno cualquiera de los oligonucleótidos de direccionamiento a STAT3 descritos en la presente descripción. Los sujetos que son resistentes a anti-PD1 o anti-PD-L1 incluyen sujetos cuyo beneficio del tratamiento con anti-PD1 o anti-PD-L1 permaneció disminuido en al menos una desviación estándar en comparación con un control no resistente durante más de tres meses.

En algunas modalidades, un agente terapéutico se administra como monoterapia y es un inhibidor de la expresión de STAT3 y PD-L1. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un producto farmacéutico que comprende al menos un primer y un segundo agente terapéutico, en donde el primer agente terapéutico es un inhibidor de STAT3. En algunas modalidades, un agente terapéutico se administra antes de, o intermitentemente con, la administración de un segundo agente terapéutico. En algunas modalidades, un primer agente terapéutico se administra de manera simultánea o simultáneamente con un segundo agente terapéutico. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un producto farmacéutico que comprende más de dos agentes terapéuticos, en donde el primer agente terapéutico es un inhibidor de STAT3.

En algunos aspectos, la descripción proporciona un método para tratar el cáncer en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un conjugado oligonucleótido-ligando descrito en la presente descripción que se dirige a un regulador de inmunosupresión, proporcionado por la descripción, en combinación con uno o más agentes o procedimientos terapéuticos adicionales. En algunas modalidades, la descripción proporciona un método para tratar el cáncer en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un oligonucleótido que se dirige a STAT3, proporcionado por la descripción, en combinación con uno o más agentes o procedimientos terapéuticos adicionales. En algunos aspectos, el segundo agente o procedimiento terapéutico se selecciona del grupo que consiste en: una quimioterapia, una terapia dirigida contra el cáncer, un fármaco oncolítico, un agente citotóxico, una terapia basada en el sistema inmunitario, una citocina, un procedimiento quirúrgico, un procedimiento de radiación, un activador de una molécula coestimuladora, un inhibidor de una molécula inhibidora, una vacuna o una inmunoterapia celular, terapia génica o una de sus combinaciones.

En algunas modalidades, la descripción proporciona un método para tratar a un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3, el

método comprende administrar al sujeto una cantidad con eficacia terapéutica de un oligonucleótido o conjugado oligonucleótido-ligando descrito en la presente descripción. En algunas modalidades, el oligonucleótido o el conjugado oligonucleótido-ligando, se administra en combinación con una segunda composición o agente terapéutico. En algunas modalidades, la segunda composición o agente terapéutico se dirige a TGFB, CXCR2, CCR2, ARG1, PTGS2, SOCS1 o PD-L1.

En algunas modalidades, el uno o más agentes terapéuticos adicionales es un antagonista de PD-1, un inhibidor de CTLA-4, un inhibidor de TGFB, un inhibidor de CXCR2, un antagonista de CCR2, un inhibidor de ARG1, un inhibidor de PTGS2, un modulador de SOCS1 o una de sus combinaciones.

En algunas modalidades, el uno o más agentes terapéuticos adicionales es un antagonista de PD-1.

En algunas modalidades, el antagonista de PD-1 se selecciona del grupo que consiste en: PDR001, nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 y AMP-224. En algunas modalidades, el antagonista de PD-1 se selecciona del grupo que consiste en: FAZ053, Atezolizumab, Avelumab, Durvalumab y BMS-936559.

En algunas modalidades, el uno o más agentes terapéuticos adicionales es un inhibidor de CTLA-4. En algunas modalidades, el inhibidor de CTLA-4 es Ipilimumab o Tremelimumab.

En algunas modalidades, el uno o más agentes terapéuticos adicionales es un inhibidor de TGFB. En algunas modalidades, el inhibidor de TGFB es Frisolimumab, LY3022859 o PF-03446962.

En algunas modalidades, el uno o más agentes terapéuticos adicionales es un inhibidor de ARG1. En algunas modalidades, el inhibidor de ARG1 es CB-1158.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1A proporciona estructuras de moléculas de oligonucleótidos de ARNi que tienen modificaciones químicas con GalNAc (arriba) o lípido (abajo) conjugado con la molécula base para generar conjugados oligonucleótido-ligando.

La Figura 1B proporciona estructuras de colas lipídicas adecuadas para la conjugación con moléculas de oligonucleótidos de ARNi.

La Figura 2A es un gráfico que representa los niveles del ARNm restante de *ALDH2* humano en el epitelio del xenoinjerto tumoral LS411N humano de ratones, tres días después del tratamiento con conjugados lipídicos de ARNi-GalXC de ALDH2 10 mg/kg con longitudes de cadena acilo variables e insaturación.

La Figura 2B es un gráfico que representa los niveles del ARNm restante de *Aldh2* de ratón en el microentorno tumoral (TME) aislado de xenoinjertos tumorales LS411N humanos. El TME se aisló de ratones tres días después del tratamiento con conjugados lipídicos de ALDH2-GalXC 10 mg/kg con longitudes variables de cadena de acilo e insaturación

La Figura 3A es un gráfico que muestra el ARNm restante de *ALDH2* humano después del tratamiento con varias dosis del conjugado de GalXC-ALDH2-C22 en el epitelio del xenoinjerto del tumor LS411N humano. Las muestras se recolectaron de ratones los días 3, 7 y 14 después del tratamiento.

La Figura 3B es un gráfico que muestra el ARNm restante de *Aldh2* de ratón después del tratamiento con varias dosis del conjugado de GalXC-ALDH2-C22 en tejido de ratón hospedero en el microentorno tumoral recolectado de tumores LS411N humanos. Las muestras se recolectaron los días 3, 7 y 14 después del tratamiento.

Las Figuras 4A y 4B son gráficos que muestran el ARNm restante de *Aldh2* de ratón después del tratamiento con 25 mg/kg del conjugado de GalXC-ALDH2-C22 en los ganglios linfáticos que drenan el tumor de ratones portadores de xenoinjerto tumoral LS411N humano (Figura 4A) y en ganglios linfáticos de ratones sin tumores (Figura 4B).

La Figura 5A es un gráfico que muestra los niveles del ARNm restante de *Aldh2* de ratón después del tratamiento con conjugado de GalXC-ALDH2-C22 o PBS en ganglios linfáticos que drenan el tumor (TdLN) murinos en comparación con los no TdLN a lo largo del tiempo en xenoinjertos tumorales LS411N humanos. El ARNm normalizado es con relación al de un ratón tratado con PBS.

La Figura 5B proporciona gráficos que muestran los niveles de ARNm de *Pdl1* en los ganglios linfáticos que drenan el tumor murinos (TdLN) en comparación con los no TdLN de ratones con xenoinjerto tumoral LS411N tratados con GalXC-ALDH2-C22.

La Figura 6 es un gráfico que demuestra la expresión de *Arg1* en células supresoras de origen mieloide CD11b⁺ (MDSC) asociadas al tumor y en células mieloides del bazo normales aisladas de xenoinjertos tumorales LS411N humanos tratados con 25 mg/kg de

GalXC-ALDH2-C22. Tres días después del tratamiento, las MDSC y las células tumorales se aislaron de los ratones y se midieron mediante el uso de ARNm de CD11b. BLOQ= por debajo del límite de cuantificación.

Las Figuras 7A y 7B son gráficos que muestran el nivel de ARNm restante de *Aldh2* de ratón en MDSC CD11b+ aisladas (Figura 7A) y en células tumorales (Figura 7B) de ratones con xenoinjertos tumorales LS411N humanos tratados con conjugado GalXC-ALDH2-C22. Las Figuras 8A y 8B son gráficos que muestran el ARNm restante de *Aldh2* de ratón de un fragmento tumoral (Figura 8A) y del hígado (Figura 8B) de xenoinjertos Pan02. Los ratones se trataron con 25 mg/kg del conjugado de lipídico GalXC-ALDH2 especificado y el ARNm se midió el día 3.

Las Figuras 8C y 8D son gráficos que muestran el ARNm restante de *Aldh2* de ratón de un fragmento tumoral (Figura 8C) y de ganglios linfáticos que drena el tumor (TdLN) de ratones con xenoinjertos Pan02 el día 7 y el día 14 después del tratamiento con 25 mg/kg del conjugado lipídico GalXC-ALDH2 especificado.

La Figura 9 proporciona gráficos que muestran la expresión de marcadores de ARNm de diferenciación (*Ly6G*, *Cxcr2*, *Slc27a2* y *Ptgs2*) en G-MDSC aisladas del TME de tumores PAN02 (control) no tratados.

La Figura 10 proporciona gráficos que muestran la expresión de marcadores de ARNm de diferenciación (*Ly6G*, *Cxcr2*, *Slc27a2* y *Ptgs2*) en M-MDSC aisladas del TME.

Las Figuras 11 y 12 proporcionan gráficos que muestran la expresión diferencial de los receptores de tráfico lipídico en G-MDSC y M-MDSC en tejido (control) no tratado.

Las Figuras 13A y 13B proporcionan gráficos que muestran los niveles del ARNm restante de *Aldh2* de ratón después del tratamiento con 25 mg/kg del conjugado de GalXC-ALDH2-C18 en G-MDSC aisladas y M-MDSC de Pan02 (Figura 13A) y en TME de B16F10 (Figura 13B). Los ratones se aleatorizaron en grupos una vez que los tumores alcanzaron los 300-500 mm³ y después se trataron el día 1 y el tejido se recolectó para análisis el día 3.

Las Figuras 13C y 13D proporcionan gráficos que muestran los niveles del ARNm restante de *Aldh2* de ratón después del tratamiento con 50 mg/kg del conjugado de GalXC-ALDH2-C18 en G-MDSC y M-MDSC del TME de Pan02 de los ratones en los días 3 (Figura 13C) y 7 (Figura 13D).

Las Figuras 14A - 14C son gráficos que muestran la expresión relativa de *Stat3* en G-

MDSC (Figura 14A), M-MDSC (Figura 14B) y TdLN (Figura 14C) de xenoinjertos Pan02 implantados en ratones.

Las Figuras 15A y 15B son gráficos que muestran los niveles del ARNm restante de *Stat3* de ratón en los hígados de ratones tratados con conjugados de GalXC-STAT3 (conjugado de GalNAc) dirigidos a diferentes regiones del ARNm de *Stat3*. A los ratones se les administró una dosis única (3 mg/kg) (Figura 15A) y dosis múltiples para determinar la respuesta a la dosis (Figura 15B). Las flechas indican las construcciones seleccionadas para un estudio posterior.

Las Figuras 16A y 16B son gráficos que muestran la expresión del ARNm de *Stat3* de ratón después del tratamiento con conjugados de GalXC-STAT3-C18 en G-MDSC y M-MDSC derivadas de xenoinjertos Pan02 implantados en ratones. Los tumores se administraron a 25 mg/kg (Figura 16A) y 50 mg/kg (Figura 16B).

Las Figuras 17A y 17B son gráficos que muestran la expresión de ARNm de *Stat3* de ratón después del tratamiento de ratones con xenoinjerto Pan02 con conjugados de GalXC-STAT3-C18 en un fragmento tumoral (TME) (Figura 17A) y TdLN (Figura 17B) a dosis de 25 y 50 mg/kg.

La Figura 18A proporciona gráficos que muestran el efecto de GalXC-STAT3-C18-4123 sobre los niveles de ARNm de *Stat3* y *Pdl1* en G/M-MDSC en TME y TdLN de ratones con xenoinjerto Pan02 el día 3 después de una dosis de 25 o 50 mg/kg de conjugado.

La Figura 18B proporciona gráficos que muestran el efecto de GalXC-STAT3-C18-4123 en los niveles del ARNm de *Stat3* y *Pdl1* en TdLN de ratones con xenoinjerto Pan02 el día 7 después de una dosis de 25 mg/kg de conjugado.

Las Figuras 19A y 19B son gráficos que muestran el efecto *in vivo* del tratamiento subcutáneo con una dosis total de 50 mg/kg de GalXC-STAT3-C18-4123 sobre el volumen tumoral en ratones inmunocompetentes portadores de tumores pancreáticos murinos Pan02. Los ratones se trataron con cuatro dosis de 12.5 mg/kg (Figura 19A) o dos dosis de 25 mg/kg (Figura 19B) de conjugado.

La Figura 20 proporciona un gráfico que representa el por ciento (%) de ARNm restante de *STAT3* humano en las células Huh7 que expresan endógenamente *STAT3* humano, después de un tratamiento de 24 horas con 1 nM de ARNisD dirigido a varias regiones del gen *STAT3*. Se diseñaron y se seleccionaron 192 ARNisD. Se usaron dos pares de cebadores.

La expresión se normalizó entre las muestras mediante el uso de los genes de expresión constitutiva HPRT y SFRS9 (Directa 1- SEQ ID NO: 1219, Inversa 1- SEQ ID NO: 1220; Sonda 1- SEQ ID NO: 1221; Directa 2- SEQ ID NO: 1222, Inversa 2- SEQ ID NO: 1223; Sonda 2- SEQ ID NO: 1224).

Las Figuras 21A y 21B proporcionan gráficos que representan el porcentaje (%) de ARNm restante de *STAT3* humano en células Huh7 que expresan endógenamente *STAT3* humano, después de 24 horas de tratamiento con 0.05 nM, 0.3 nM o 1 nM de ARNiSD dirigido a varias regiones del gen *STAT3*. Se analizaron 48 oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc en la Figura 21A y 34 de esos oligonucleótidos se seleccionaron para pruebas adicionales *in vivo* (Figura 21B).

Las Figuras 22A y 22B proporcionan gráficos que representan el por ciento (%) de ARNm restante de *STAT3* humano en el hígado de ratones que expresan exógenamente *STAT3* humano (modelo de inyección hidrodinámica) después del tratamiento con oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. Los ratones se dosificaron por vía subcutánea con 1 mg/kg de los oligonucleótidos de GalNAc-*STAT3* indicados formulados en PBS. Tres días después de la dosis, los ratones se inyectaron hidrodinámicamente (HDI) con un plásmido de ADN que codifica *STAT3* humano. El nivel del ARNm de *STAT3* humano se determinó a partir de los hígados recolectados 18 horas después de la inyección. Las flechas indican los oligonucleótidos seleccionados para el análisis de la respuesta a la dosis. Hs/Mf = secuencia común humana/de mono; Hs/Mm = secuencia común humana/de ratón; Hs-Mf-Mm = secuencia común triple humana/de mono/de ratón.

La Figura 23 proporciona un gráfico que representa la respuesta a la dosis de oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. Se midió el por ciento (%) del ARNm restante de *STAT3* humano en el hígado de ratones que expresan exógenamente *STAT3* humano (modelo de inyección hidrodinámica) después del tratamiento con oligonucleótidos de *STAT3* humano conjugados con GalNAc en tres dosis (0.3 mg/kg, 1 mg/kg). El nivel de ARNm de *STAT3* humano se determinó a partir de los hígados recolectados 18 horas después de la inyección con el plásmido que codifica *STAT3* humano. Las flechas indican los oligonucleótidos seleccionados para el análisis de la respuesta a la dosis. Hs/Mf = secuencia común humana/de mono; Hs/Mm = secuencia común humana/de ratón.

La Figura 24 proporciona un gráfico que representa el ARNm restante de *STAT3* de ratón

normalizado relativo (a Ppib) en el hígado de ratones que expresan endógenamente *STAT3* de ratón después del tratamiento con oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. Los ratones se dosificaron por vía subcutánea con 3 mg/kg de los oligonucleótidos de GalNAc-*STAT3* indicados formulados en PBS. Se recolectó el hígado cinco días después de la dosis y se determinó el nivel del ARNm de *STAT3* de ratón. Las flechas indican los principales oligonucleótidos y los seleccionados para el estudio de respuesta a la dosis.

La Figura 25 proporciona un gráfico que representa el ARNm restante de *STAT3* de ratón normalizado relativo (a Ppib) en el hígado de ratones que expresan endógenamente *STAT3* de ratón después del tratamiento con oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. Los ratones se dosificaron por vía subcutánea con 3 mg/kg de los oligonucleótidos de GalNAc-*STAT3* indicados formulados en PBS. Se recolectó el hígado cinco días después de la dosis y se determinó el nivel del ARNm de *STAT3* de ratón. Las flechas indican los oligonucleótidos seleccionados para el estudio de respuesta a la dosis.

Las Figuras 26A y 26B proporcionan gráficos que representan la respuesta a la dosis de oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. Se midió el porcentaje (%) de ARNm restante de *STAT3* de ratón en el hígado de ratones que expresan endógenamente *STAT3* después del tratamiento con oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc humano a tres dosis (0.3 mg/kg, 1 mg/kg y 3 mg/kg). El nivel del ARNm de *STAT3* de ratón se determinó a partir de los hígados recolectados 5 días más tarde. TC = triple común (ratón/humano/mono); Hs_Mm = humano/ratón.

La Figura 27 proporciona un gráfico que representa el por ciento (%) de ARNm restante de *STAT3* humano en el hígado de ratones que expresan exógenamente *STAT3* humano (modelo de inyección hidrodinámica) después del tratamiento con oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. Los ratones se dosificaron por vía subcutánea con 1 mg/kg de los oligonucleótidos de GalNAc-*STAT3* indicados formulados en PBS. Tres días después de la dosis, los ratones se inyectaron hidrodinámicamente (HDI) con un plásmido de ADN que codifica *STAT3* humano. El nivel del ARNm de *STAT3* humano se determinó a partir de los hígados recolectados 18 horas después de la inyección. Las flechas indican los oligonucleótidos seleccionados para el estudio de respuesta a la dosis.

La Figura 28 proporciona un gráfico que representa la respuesta a la dosis de oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. El porcentaje (%) del ARNm restante

de *STAT3* humano en hígado de ratones que expresan exógenamente *STAT3* humano (modelo de inyección hidrodinámica) después del tratamiento con oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. Los ratones se dosificaron por vía subcutánea con tres dosis (0.3mg/kg, 1mg/kg y 3mg/kg) de los oligonucleótidos de GalNAc-*STAT3* indicados formulados en PBS. Tres días después de la dosis, los ratones se inyectaron hidrodinámicamente (HDI) con un plásmido de ADN que codifica *STAT3* humano. El nivel del ARNm de *STAT3* humano se determinó a partir de los hígados recolectados 18 horas después de la inyección. TC = triple común (ratón/humano/mono); Hs_Mm = humano/ratón; Hs = humano.

La Figura 29 proporciona un gráfico que representa la respuesta a la dosis de oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. El porcentaje (%) del ARNm restante de *STAT3* humano en hígado de ratones que expresan exógenamente *STAT3* humano (modelo de inyección hidrodinámica) después del tratamiento con oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. Los ratones se dosificaron por vía subcutánea con dos dosis (0.3mg/kg y 1mg/kg) de los oligonucleótidos de GalNAc-*STAT3* indicados formulados en PBS. Tres días después de la dosis, los ratones se inyectaron hidrodinámicamente (HDI) con un plásmido de ADN que codifica *STAT3* humano. El nivel del ARNm de *STAT3* humano se determinó a partir de los hígados recolectados 18 horas después de la inyección.

La Figura 30 proporciona un gráfico que representa el porcentaje (%) del ARNm restante de *STAT1* humano en células Huh7 que expresan endógenamente *STAT3* y *STAT1* tratadas con oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc. Las células se trataron durante 24 horas con tres dosis (0.05 nM, 0.3 nM y 1 nM) de oligonucleótido.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente descripción se describirá ahora más detalladamente a continuación con referencia a los dibujos adjuntos, en los que se muestran modalidades ilustrativas de la descripción. La descripción puede, sin embargo, realizarse de muchas formas diferentes y no debe interpretarse como limitada a las modalidades que se exponen en la presente descripción; más bien, estas modalidades se proporcionan de manera que esta descripción sea exhaustiva y completa, y transmitirá completamente el alcance de la descripción a los

expertos en la técnica.

En algunos aspectos, la descripción proporciona conjugados oligonucleótido-ligando (por ejemplo, conjugados lipídicos de oligonucleótido de ARNi) que reducen la expresión de un gen diana (por ejemplo, que codifican un regulador de inmunosupresión) en células inmunitarias dentro de un microentorno tumoral. En otros aspectos, la descripción proporciona métodos para tratar una enfermedad o trastorno (por ejemplo, cáncer) mediante el uso de los conjugados oligonucleótido-ligando, o composiciones farmacéuticamente aceptables de estos, descritos en la presente descripción. En otros aspectos, la descripción proporciona métodos para usar los conjugados oligonucleótido-ligando descritos en la presente descripción en la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer. En otros aspectos, los conjugados oligonucleótido-ligando proporcionados en la presente descripción se usan para tratar el cáncer mediante la modulación de (por ejemplo, inhibición o reducción) la expresión de un gen diana que codifica un regulador de inmunosupresión en una célula inmunitaria en el microentorno tumoral. En algunos aspectos, la descripción proporciona métodos para tratar el cáncer mediante la reducción de la expresión de una diana que codifica un regulador de inmunosupresión en una célula inmunitaria en el microentorno tumoral.

Definiciones

Las publicaciones analizadas a lo largo del texto se proporcionan únicamente para su descripción antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada de lo contenido en la presente descripción debe interpretarse como una admisión de que los inventores no tienen derecho a anteceder a dicha descripción en virtud de la descripción anterior.

Como se usa en la presente descripción, el término "y/o" incluye cualquiera y todas las combinaciones de uno o más de los elementos enumerados asociados. Además, las formas singulares y los artículos "un", "uno" y "el" pretenden incluir también las formas plurales, a menos que se indique expresamente de cualquier otra manera. Se entenderá además que los términos: incluyen, comprenden, que incluyen y/o comprenden, cuando se usan en esta descripción, especifican la presencia de características, enteros, etapas, operaciones, elementos y/o componentes establecidos, pero no excluyen la presencia o adición de una o más características, enteros, etapas, operaciones, elementos, componentes y/o grupos de estos. Además, se debe entender que cuando un elemento, que incluye un componente o

subsistema, se refiere y/o se muestra que se conecta o acopla a otro elemento, puede conectarse o acoplarse directamente al otro elemento o pueden estar presentes elementos intermedios.

A menos que se indique de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen los mismos significados que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente descripción pueden usarse en la práctica de los métodos y composiciones descritos, en la presente descripción se describen los métodos y materiales ilustrativos.

Los textos generales que describen técnicas biológicas moleculares útiles en la presente descripción, que incluye el uso de vectores, promotores y muchos otros temas relevantes, incluyen Berger y Kimmel, GUIDE TO MOLECULAR CLONING TECHNIQUES, METHODS IN ENZYMOLOGY, volumen 152, (Academic Press, Inc., San Diego, Calif.) ("Berger"); Sambrook y otros, MOLECULAR CLONING--A LABORATORY MANUAL, 2da ed., Vol. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1989 ("Sambrook") y CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, F.M. Ausubel y otros, eds., CURRENT PROTOCOLS, A JOINT VENTURE BETWEEN GREENE PUBLISHING ASSOCIATES, INC. Y JOHN WILEY AND SONS, INC., (suplementada hasta 1999) ("Ausubel"). Los ejemplos de protocolos suficientes para dirigir a los expertos a través de métodos de amplificación *in vitro*, que incluyen la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la reacción en cadena de la ligasa (LCR), la amplificación de la Q.beta-replicasa y otras técnicas mediadas por la ARN polimerasa (por ejemplo, NASBA), por ejemplo, para la producción de los ácidos nucleicos homólogos de la descripción se encuentran en Berger, Sambrook y Ausubel, así como también en Mullis y otros, (1987) U.S. Pat. núm. 4,683,202; Innis y otros, eds. (1990); PCR PROTOCOLS: A GUIDE TO METHODS AND APPLICATIONS (Academic Press Inc. San Diego, Calif.) ("Innis"); Arnheim y Levinson (Oct. 1, 1990) Cy EN 36-47; J. NIH RES. (1991) 3:81-94; Kwoh y otros, (1989) PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 86: 1173; Guatelliet y otros, (1990) PROC. NAT'L. ACAD. SCI. USA 87: 1874; Lomell y otros, (1989) J. CLIN. CHEM 35: 1826; Lyegren y otros, (1988) SCIENCE 241: 1077-80; Van Brunt (1990) BIOTECHNOLOGY 8: 291-94; Wu y Wallace (1989) GENE 4:560; Barringer y otros, (1990) GENE 89:117; y, Sooknanan y Malek (1995) BIOTECHNOLOGY 13: 563-564. Los métodos

mejorados para clonar ácidos nucleicos amplificados *in vitro* se describen en Wallace y otros, patente de EE. UU. Núm. 5,426,039. Los métodos mejorados para amplificar grandes ácidos nucleicos mediante PCR se resumen en Cheng y otros, (1994) NATURE 369: 684-85 y las referencias citadas en ella, en las que se generan amplicones de PCR de hasta 40 kb.

Como se usa en la descripción y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno" y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contexto lo indique claramente de cualquier otra manera. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un portador farmacéutico" incluye mezclas de dos o más de tales portadores, y similares.

Los intervalos pueden expresarse en la presente descripción como de "aproximadamente" un valor, y/o "a aproximadamente" otro valor. Cuando se expresa tal intervalo, otra modalidad incluye desde un valor y/o al otro valor. De manera similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso de los antecedentes "aproximadamente", se debe entender que el valor forma otra modalidad. Se entenderá además que los criterios de valoración de cada uno de los intervalos son significativos tanto en relación con el otro criterio de valoración como independientemente del otro criterio de valoración. También se entiende que hay numerosos valores descritos en la presente descripción, y que cada valor también se describe en la presente descripción como "aproximadamente" ese valor además del valor en sí. Por ejemplo, si se describe el valor "10", también se describe "aproximadamente 10". También se entiende que cuando se describe un valor, también se describen "menor que o igual que" el valor, "mayor que o igual que el valor" y posibles intervalos entre valores, como lo entiende apropiadamente el experto en la técnica. Por ejemplo, si el valor "10" se describe, también se describe "menor que o igual a 10" así como también "mayor que o igual a 10". También se entiende que, a lo largo de toda la solicitud, los datos se proporcionan en numerosos formatos diferentes, y que estos datos, representan extremos y puntos de partida, e intervalos para cualquier combinación de los puntos de datos. Por ejemplo, si se describen un punto de datos particular "10" y un punto de datos particular 15, se entiende que se consideran descritos mayores que, mayores que o iguales a, menores que, menores que o iguales a, e iguales a 10 y 15, así como también entre 10 y 15. También se entiende que cada unidad entre dos unidades particulares también se describe. Por ejemplo, si se describen 10 y 15, entonces también se describen 11, 12, 13 y 14.

En esta descripción y en las reivindicaciones, que siguen, se hará referencia a numerosos términos que se definirán con los siguientes significados:

El término "cáncer" o "tumor" incluye, pero no se limita a, tumores sólidos y tumores de transmisión hemática. Estos términos incluyen enfermedades de la piel, tejidos, órganos, hueso, cartílago, sangre y vasos sanguíneos. Estos términos abarcan además cánceres primarios y metastásicos.

El término "PD-1" se refiere a una proteína que se encuentra en los linfocitos T que ayuda a mantener las respuestas inmunitarias bajo control. Cuando PD-1 se une a otra proteína llamada PD-L1, ayuda a evitar que los linfocitos T destruyan a otras células, que incluye las células cancerosas. Algunos fármacos contra el cáncer, llamados inhibidores de puntos de control inmunitario, se usan para bloquear PD-1. Cuando se evita que esta proteína actúe sobre los linfocitos T, estos pueden actuar para destruir las células cancerosas.

El término "STAT3" se refiere al transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3), que es un factor de transcripción que en humanos está codificado por el gen STAT3 (STAT3 Human (Hs) NM_001369512.1 Genbank RefSeq #, o NM_139276.3). STAT3 media la expresión de una variedad de genes en respuesta a los estímulos celulares y, por lo tanto, desempeña un papel clave en muchos procesos celulares tales como el crecimiento celular y la apoptosis, así como también el crecimiento y la progresión del cáncer.

El término "TGF- β " se refiere al factor de crecimiento transformador beta (TGF- β), que es una citocina implicada en la regulación y diferenciación inmunitaria y de células madre. El TGF- β es una citocina importante con funciones identificadas en muchas patologías, que incluye el cáncer, las enfermedades infecciosas y la autoinmunidad. Sus funciones inmunosupresoras en el microentorno tumoral contribuyen a la oncogénesis (Massague y otros, CELL, 103 (2): 295-309 (2000)).

El término "CXCR2" se refiere al receptor de quimiocina 2 del motivo C-X-C (CXCR2), que es un receptor de interleucina 8 (IL-8) y un miembro de la familia de receptores acoplados a proteínas G. CXCR2 puede mediar la migración de neutrófilos a las áreas de inflamación.

El término "CCR2" se refiere al receptor de quimiocina C-C tipo 2 (CCR2), que es un receptor de la proteína quimioatrayente de monocitos 1. La respuesta inflamatoria en

algunos cánceres puede estar mediada parcialmente por las actividades de la proteína quimioatrayente de monocitos 1.

El término “ARG1” se refiere a la Arginasa-1 (ARG1), que es una enzima que convierte la L-arginina en urea y en L-ornitina. La L-arginina y sus metabolitos aguas abajo contribuyen a un microentorno tumoral supresor mediante la modulación de la actividad de los linfocitos T (Kim y otros, FRONTIERS IN ONCOLOGY, 8:67 (2018)).

El término “PTGS2” se refiere a la prostaglandina-endoperóxido sintasa 2 (PTGS2) que también se conoce como ciclooxigenasa-2 o COX-2. La PTGS2 es una enzima clave en la síntesis de prostaglandinas. Las prostaglandinas pueden inhibir las actividades antitumorales de algunas células inmunitarias, lo que contribuye a un microentorno tumoral supresor.

El término “CTLA-4” se refiere a la proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) o grupo de diferenciación 152 (CD152), que es una proteína que se encuentra en los linfocitos T y que ayuda a mantener las respuestas inmunitarias bajo control. CTLA-4 fue la primera diana de punto de control inmunitario y se han desarrollado inhibidores de CTLA-4 como tratamientos innovadores contra el cáncer.

El término “SOCS1” se refiere al supresor de la señalización de citocinas 1 (SOCS1), que es un miembro de la familia de inhibidores STAT inducidos por STAT (SSI). SOCS1 es un regulador negativo inducible por citocinas de la señalización de citocinas.

Como se usa en la presente descripción, el término "tumor frío" o "tumor no inflamado" se refiere a un tumor o microentorno tumoral en donde hay una presencia mínima o nula de células inmunitarias antitumorales, tales como linfocitos infiltrantes de tumor (TIL), y/o contienen subconjuntos de células asociados con la inmunosupresión que incluyen linfocitos T reguladores (Treg), células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) y macrófagos M2. Específicamente, en algunas modalidades, un tumor frío se caracteriza por un número bajo o incluso la ausencia de infiltración de células inmunitarias antitumorales, que tales células pueden estar presentes, pero permanecen atascadas en el estroma circundante, por lo que no pueden colonizar el microentorno tumoral para proporcionar sus funciones antitumorales.

Como se usa en la presente descripción, "complementario" se refiere a una relación estructural entre dos nucleótidos (por ejemplo, en dos ácidos nucleicos opuestos o en

regiones opuestas de una sola hebra de ácido nucleico) que permite que los dos nucleótidos formen pares de bases entre sí. Por ejemplo, un nucleótido de purina de un ácido nucleico que es complementario a un nucleótido de pirimidina de un ácido nucleico opuesto puede aparearse formando enlaces de hidrógeno entre sí. En algunas modalidades, los nucleótidos complementarios pueden aparearse a la manera de Watson-Crick o de cualquier otra manera que permita la formación de híbridos estables. En algunas modalidades, dos ácidos nucleicos pueden tener regiones de múltiples nucleótidos que son complementarios entre sí para formar regiones de complementariedad, como se describió en la presente descripción.

Como se usa en la presente descripción, “oligonucleótido de reactividad cruzada entre especies” se refiere a un oligonucleótido capaz de inhibir la expresión de un ARNm diana en más de una especie. Por ejemplo, en algunas modalidades, un oligonucleótido de reactividad cruzada entre especies es capaz de inhibir la expresión de un ARNm diana en primates humanos y no humanos. Las especies de ejemplo incluyen, pero no se limitan a humanos, primates no humanos, ratones y ratas. En algunas modalidades, los oligonucleótidos de reactividad cruzada entre especies son capaces de dirigirse e inhibir el ARNm en al menos dos, al menos tres o al menos cuatro especies.

Como se usa en la presente descripción, “desoxirribonucleótido” se refiere a un nucleótido que tiene un hidrógeno en lugar de un hidroxilo en la posición 2' de su azúcar pentosa cuando se compara con un ribonucleótido. Un desoxirribonucleótido modificado es un desoxirribonucleótido que tiene una o más modificaciones o sustituciones de átomos distintos de los de la posición 2', que incluyen modificaciones o sustituciones en o del azúcar, el grupo fosfato o la base.

Como se usa en la presente descripción, “ARN bicatenario” u “ARNbc” se refiere a un oligonucleótido de ARN que está sustancialmente en una forma híbrida. En algunas modalidades, el apareamiento de bases complementarias de la(s) región(ones) híbrida(s) de un oligonucleótido de ARNbc se forma entre secuencias antiparalelas de nucleótidos de hebras de ácido nucleico separadas covalentemente. En algunas modalidades, el apareamiento de bases complementarias de la(s) región(ones) híbrida(s) de un ARNbc se forma entre secuencias antiparalelas de nucleótidos de hebras de ácido nucleico que están unidas covalentemente. En algunas modalidades, el apareamiento de bases complementarias de la(s) región(ones) híbrida(s) de un ARNbc se forma a partir de una sola

hebra de ácido nucleico que se pliega (por ejemplo, mediante una horquilla) para proporcionar secuencias antiparalelas complementarias de nucleótidos que forman pares de bases. En algunas modalidades, un ARNbc comprende dos hebras de ácido nucleico separadas covalentemente que están hibridadas totalmente entre sí. Sin embargo, en algunas modalidades, un ARNbc comprende dos hebras de ácido nucleico separadas covalentemente que están hibridadas parcialmente (por ejemplo, con salientes en uno o en ambos extremos). En algunas modalidades, un ARNbc comprende una secuencia antiparalela de nucleótidos que son parcialmente complementarios y, por lo tanto, pueden tener uno o más errores de apareamiento, que pueden incluir errores de apareamiento internos o errores de apareamiento en los extremos.

Como se usa en la presente descripción, "híbrido", en referencia a los ácidos nucleicos (por ejemplo, oligonucleótidos), se refiere a una estructura formada a través del apareamiento de bases complementarias de dos secuencias antiparalelas de nucleótidos.

Como se usa en la presente descripción, "excipiente" se refiere a un agente no terapéutico que se puede incluir en una composición, por ejemplo, para proporcionar o contribuir a una consistencia deseada o un efecto estabilizador.

Como se usa en la presente descripción, el término "tumor caliente" o "tumor inflamado" se refiere a un tumor o microentorno tumoral en donde existe una presencia considerable de células inmunitarias antitumorales especialmente TIL y, por lo tanto, son típicamente inmunoestimuladores.

Como se usa en la presente descripción, el término "lazo" se refiere a una región no apareada de un ácido nucleico (por ejemplo, oligonucleótido) que está flanqueada por dos regiones antiparalelas del ácido nucleico que son suficientemente complementarias entre sí, de manera que, en condiciones de hibridación apropiadas (por ejemplo, en un tampón de fosfato, en unas células), las dos regiones antiparalelas, que flanquean la región no apareada, se hibridan para formar un híbrido (denominado como "tallo"). El lazo puede referirse a un lazo que comprende cuatro nucleótidos como un tetralazo (tetraL). El lazo puede referirse a un lazo que comprende tres nucleótidos como un trilazo (triL).

Como se usa en la presente descripción, "enlace internucleotídico modificado" se refiere a un enlace internucleotídico que tiene una o más modificaciones químicas cuando se compara con un enlace internucleotídico de referencia que comprende un enlace

fosfodiéster. En algunas modalidades, un nucleótido modificado es un enlace que no se produce de forma natural. Típicamente, un enlace internucleotídico modificado confiere una o más propiedades convenientes a un ácido nucleico en el que está presente el enlace internucleotídico modificado. Por ejemplo, un nucleótido modificado puede mejorar la estabilidad térmica, la resistencia a la degradación, la resistencia a las nucleasas, la solubilidad, la biodisponibilidad, la bioactividad, la inmunogenicidad reducida, etcétera.

Como se usa en la presente descripción, “nucleótido modificado” se refiere a un nucleótido que tiene una o más modificaciones químicas cuando se compara con un nucleótido de referencia correspondiente que se selecciona de: ribonucleótido de adenina, ribonucleótido de guanina, ribonucleótido de citosina, ribonucleótido de uracilo, desoxirribonucleótido de adenina, desoxirribonucleótido de guanina, desoxirribonucleótido de citosina y desoxirribonucleótido de timidina. En algunas modalidades, un nucleótido modificado es un nucleótido de origen no natural. En algunas modalidades, un nucleótido modificado tiene una o más modificaciones químicas en su azúcar, nucleobase y/o grupo fosfato. En algunas modalidades, un nucleótido modificado tiene uno o más restos químicos conjugados con un nucleótido de referencia correspondiente. Típicamente, un nucleótido modificado confiere una o más propiedades convenientes a un ácido nucleico en el que está presente el nucleótido modificado. Por ejemplo, un nucleótido modificado puede mejorar la estabilidad térmica, la resistencia a la degradación, la resistencia a las nucleasas, la solubilidad, la biodisponibilidad, la bioactividad, la inmunogenicidad reducida, etcétera.

Como se usa en la presente descripción, “estructura de tetralazo con mella” se refiere a una estructura de un oligonucleótido de ARNi que se caracteriza por hebras sentido (pasajera) y antisentido (guía) separadas, en las que la hebra sentido tiene una región de complementariedad con la hebra antisentido, y en donde al menos una de las hebras, generalmente la hebra sentido, tiene un tetralazo configurado para estabilizar una región de tallo adyacente formada dentro de la al menos una hebra.

Como se usa en la presente descripción, “oligonucleótido” se refiere a un ácido nucleico corto (por ejemplo, menos de aproximadamente 100 nucleótidos de longitud). Un oligonucleótido puede ser monocatenario (mc) o bicatenario (bc). Un oligonucleótido puede tener o no regiones híbridas. Un oligonucleótido puede comprender desoxirribonucleósidos, ribonucleósidos, o una combinación de ambos. En algunas

modalidades, un oligonucleótido bicatenario que comprende ribonucleósidos se denomina “ARNbc”. Como un conjunto de ejemplos no limitantes, un oligonucleótido puede ser, pero no se limita a, un ARN de interferencia pequeño (ARNip), microARN (miARN), ARN de horquilla corto (ARNhc), ARN de interferencia de sustrato de dicer (ARNisD), oligonucleótido antisentido, ARNip corto o ARNip mc. En algunas modalidades, un ARN bicatenario (ARNbc) es un oligonucleótido de ARNi.

Los términos “conjugado de oligonucleótidos de ARNi” y “conjugado oligonucleótido-ligando” se usan indistintamente y se refieren a un oligonucleótido que comprende uno o más nucleótidos conjugados con uno o más ligandos de direccionamiento.

Como se usa en la presente descripción, “saliente” se refiere a nucleótido(s) terminal(es) sin apareamiento de bases resultante de una hebra o región que se extiende más allá del extremo terminal de una hebra complementaria a la que la hebra o región forma un híbrido. En algunas modalidades, un saliente comprende uno o más nucleótidos desapareados que se extienden desde una región híbrida en el extremo terminal 5' o el extremo terminal 3' de un ARNbc. En determinadas modalidades, el saliente es un saliente 3' o 5' en la hebra antisentido o en la hebra sentido de un ARNbc.

Como se usa en la presente descripción, “análogo de fosfato” se refiere a una porción química que imita las propiedades electrostáticas y/o estéricas de un grupo fosfato. En algunas modalidades, un análogo de fosfato se ubica en el nucleótido del extremo terminal 5' de un oligonucleótido en lugar de un fosfato 5', que a menudo es susceptible de eliminación enzimática. En algunas modalidades, un análogo de fosfato 5' contiene un enlace resistente a la fosfatasa. Los ejemplos de análogos de fosfato incluyen, pero no se limitan a, 5' fosfonatos, tal como 5' metileno fosfonato (5'-MP) y 5'-(E)-vinilfosfonato (5'-VP). En algunas modalidades, un oligonucleótido tiene un análogo de fosfato en una posición de carbono 4' del azúcar (denominado “análogo de 4'-fosfato”) en un nucleótido del extremo terminal 5'. Un ejemplo de un análogo de 4'-fosfato es el oximetilfosfonato, en el que el átomo de oxígeno del grupo oximetilo se une a la porción de azúcar (por ejemplo, en su carbono 4') o análogo de este. Ver, por ejemplo, solicitud de patente provisional de EE. UU. núm. 62/383,207 (presentada el 2 de septiembre de 2016) y 62/393,401 (presentada el 12 de septiembre de 2016). Se han desarrollado otras modificaciones para el extremo terminal 5' de los oligonucleótidos (ver, por ejemplo, solicitud de patente

internacional núm. WO 2011/133871; patente de EE. UU. núm. 8,927,513; y Prakash y otros (2015) NUCLEIC ACIDS RES. 43:2993-3011).

Como se usa en la presente descripción, “expresión reducida” de un gen (por ejemplo, *STAT3*) se refiere a una disminución en la cantidad o el nivel del transcrito de ARN (por ejemplo, ARNm de *STAT3*) o la proteína codificada por el gen y/o una disminución en la cantidad o el nivel de actividad del gen en una célula, una población de células, una muestra o un sujeto, cuando se compara con una referencia apropiada (por ejemplo, una célula, población de células, muestra o sujeto de referencia). Por ejemplo, el acto de poner en contacto una célula con un oligonucleótido de la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido que comprende una hebra antisentido que tiene una secuencia de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de nucleótidos que comprende el ARNm de *STAT3*) puede resultar en una disminución en la cantidad o nivel de ARNm, proteína y/o actividad de *STAT3* (por ejemplo, mediante degradación del ARNm de *STAT3* por la vía de ARNi) cuando se compara con una célula que no se trata con el ARNbc. De manera similar, y como se usa en la presente descripción, “que reduce la expresión” se refiere a un acto que resulta en la expresión reducida de un gen (por ejemplo, *STAT3*). Como se usa en la presente descripción, “reducción de la expresión de *STAT3*” se refiere a una disminución en la cantidad o nivel del ARNm de *STAT3*, proteína de *STAT3* y/o actividad de *STAT3* en una célula, una población de células, una muestra o un sujeto cuando se compara con una referencia apropiada (por ejemplo, una célula de referencia, una población de células, una muestra o un sujeto).

Como se usa en la presente descripción, “región de complementariedad” se refiere a una secuencia de nucleótidos de un ácido nucleico (por ejemplo, un ARNbc) que es suficientemente complementaria a una secuencia antiparalela de nucleótidos para permitir la hibridación entre las dos secuencias de nucleótidos en condiciones de hibridación apropiadas (por ejemplo, en un tampón de fosfato, en una célula, etcétera). En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una secuencia de direccionamiento que tiene una región de complementariedad a una secuencia diana de ARNm.

Como se usa en la presente descripción, “ribonucleótido” se refiere a un nucleótido que tiene una ribosa como su azúcar pentosa, que contiene un grupo hidroxilo en su posición 2'.

Un ribonucleótido modificado es un ribonucleótido que tiene una o más modificaciones o sustituciones de átomos distintos de los de la posición 2', que incluyen modificaciones o sustituciones en o de la ribosa, el grupo fosfato o la base.

Como se usa en la presente descripción, “oligonucleótido de ARNi” se refiere a (a) un ARNbc que tiene una hebra sentido (pasajera) y una hebra antisentido (guía), en el que la hebra antisentido o parte de la hebra antisentido se usa por la endonucleasa *Argonauta 2* (Ago2) en la escisión de un ARNm diana o (b) un oligonucleótido mc que tiene una sola hebra antisentido, donde la hebra antisentido (o parte de esa hebra antisentido) se usa por la endonucleasa Ago2 en la escisión de un ARNm diana.

Como se usa en la presente descripción, “hebra” se refiere a una única secuencia contigua de nucleótidos unidos entre sí a través de enlaces internucleotídicos (por ejemplo, enlaces fosfodiéster o enlaces fosforotioato). En algunas modalidades, una hebra tiene dos extremos libres (por ejemplo, un extremo 5' y un extremo 3').

Como se usa en la presente descripción, “sujeto” significa cualquier mamífero, que incluye ratones, conejos, primates no humanos (NHP) y humanos. En una modalidad, el sujeto es un humano o NHP. Además, “individuo” o “paciente” pueden usarse indistintamente con “sujeto”.

Como se usa en la presente descripción, “sintético” se refiere a un ácido nucleico u otra molécula que se sintetiza artificialmente (por ejemplo, mediante el uso de una máquina (por ejemplo, un sintetizador de ácido nucleico de estado sólido)) o que de cualquier otra manera no derive de una fuente natural (por ejemplo, una célula u organismo) que normalmente produce la molécula.

Como se usa en la presente descripción, “ligando de direccionamiento” se refiere a una molécula o “porción” (por ejemplo, un carbohidrato, aminoazúcar, colesterol, polipéptido o lípido) que se une selectivamente a una molécula afín (por ejemplo, un receptor) de un tejido o célula de interés y/o que puede conjugarse con otra sustancia con el fin de dirigir la otra sustancia al tejido o célula de interés. Por ejemplo, en algunas modalidades, un ligando de direccionamiento puede conjugarse con un oligonucleótido con el fin de dirigir el oligonucleótido a un tejido o célula específicos de interés. En algunas modalidades, un ligando de direccionamiento se une selectivamente a un receptor de la superficie celular. En consecuencia, en algunas modalidades, un ligando de direccionamiento cuando se conjuga

con un oligonucleótido facilita el suministro del oligonucleótido en una célula particular a través de la unión selectiva a un receptor que se expresa en la superficie de la célula y la internalización endosómica del complejo que comprende el oligonucleótido, el ligando de direccionamiento y el receptor en la célula. En algunas modalidades, un ligando de direccionamiento se conjuga con un oligonucleótido mediante un enlazador que se escinde después o durante la internalización celular de manera que el oligonucleótido se libera del ligando de direccionamiento en la célula.

Como se usa en la presente descripción, “lazo”, “trilazo” o “tetralazo” se refiere a un lazo que aumenta la estabilidad de un híbrido adyacente formado por la hibridación de secuencias flanqueantes de nucleótidos. El aumento de la estabilidad es detectable como un aumento de la temperatura de fusión (T_m) de un híbrido con tallo adyacente que es más alta que la T_m del híbrido con tallo adyacente que se espera, en promedio, de un conjunto de lazos de longitud comparable que consiste en secuencias de nucleótidos seleccionadas al azar. Por ejemplo, un lazo (por ejemplo, un tetralazo o trilazo) puede conferir una T_m de al menos aproximadamente 50 °C, al menos aproximadamente 55 °C, al menos aproximadamente 56 °C, al menos aproximadamente 58 °C, al menos aproximadamente 60 °C, al menos aproximadamente 65 °C o al menos aproximadamente 75 °C en NaHPO_4 10 mM a una horquilla que comprende un híbrido de al menos 2 pares de bases (pb) de longitud. En algunas modalidades, un lazo (por ejemplo, un tetralazo) puede estabilizar un pb en un tallo híbrido adyacente mediante interacciones de apilamiento. Además, las interacciones entre los nucleótidos en un tetralazo incluyen, pero no se limitan a, apareamiento de bases no Watson-Crick, interacciones de apilamiento, enlaces de hidrógeno e interacciones de contacto (Cheong y otros, (1990) NATURE 346:680-82; Heus y Pardi (1991) SCIENCE 253:191-94). En algunas modalidades, un lazo comprende o consiste de 3 a 6 nucleótidos y típicamente tiene de 4 a 5 nucleótidos. En determinadas modalidades, un lazo comprende o consiste de 3, 4, 5 o 6 nucleótidos, que pueden o no estar modificados (por ejemplo, que pueden o no estar conjugados con una porción de direccionamiento). En algunas modalidades, un tetralazo comprende o consiste de 3 a 6 nucleótidos y típicamente tiene de 4 a 5 nucleótidos. En determinadas modalidades, un tetralazo comprende o consiste de 3, 4, 5 o 6 nucleótidos, que pueden o no estar modificados (por ejemplo, que pueden o no estar conjugados con una porción de

direccionamiento). En una modalidad, un lazo que consiste en 4 nucleótidos es un tetralazo. Puede usarse cualquier nucleótido en el lazo (por ejemplo, un tetralazo) y los símbolos IUPAC-IUB estándar para tales nucleótidos pueden usarse como se describió en Cornish-Bowden ((1985) NUCLEIC ACIDS RES. 13:3021-3030). Por ejemplo, la letra “N” puede usarse para indicar que cualquier base puede estar en esa posición, la letra “R” puede usarse para mostrar que A (adenina) o G (guanina) pueden estar en esa posición, y “B” puede usarse para mostrar que C (citosa), G (guanina) o T (timina) pueden estar en esa posición. Los ejemplos de tetralazos incluyen la familia de tetralazos UNCG (por ejemplo, UUCG), la familia de tetralazos GNRA (por ejemplo, GAAA) y el tetralazo CUUG (Woese y otros, (1990) PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 87:8467-71; Antao y otros, (1991) NUCLEIC ACIDS RES. 19:5901-05). Los ejemplos de tetralazos de ADN incluyen la familia de tetralazos d(GNNA) (por ejemplo, d(GTTA)), la familia de tetralazos d(GNRA)), la familia de tetralazos d(GNAB), la familia de tetralazos d(CNNG) y la familia de tetralazos d(TNCG) (por ejemplo, d(TTCG)). (Ver, por ejemplo, Nakano y otros, (2002) BIOCHEM. 41:4281-92; Shinji y otros, (2000) NIPPON KAGAKKAI KOEN YOKOSHU 78:731). En algunas modalidades, el tetralazo está contenido dentro de una estructura de tetralazo con mella.

Como se usa en la presente descripción, “tratar” o “tratamiento” se refiere al acto de proporcionar atención a un sujeto que lo necesita, por ejemplo, mediante la administración de un agente terapéutico (por ejemplo, un oligonucleótido en la presente descripción) al sujeto, con el propósito de mejorar la salud y/o el bienestar del sujeto con respecto a una afección existente (por ejemplo, una enfermedad, trastorno) o para prevenir o disminuir la posibilidad de que ocurra una afección. En algunas modalidades, el tratamiento implica reducir la frecuencia o la gravedad de al menos un signo, síntoma o factor contribuyente de una afección (por ejemplo, enfermedad, trastorno) que experimenta un sujeto.

Como se usa en la presente descripción, el término "microentorno tumoral" se refiere al entorno celular en el que existe cualquier tumor dado, que incluye el estroma tumoral, los vasos sanguíneos circundantes, las células inmunitarias, los fibroblastos, otras células, las moléculas de señalización y la ECM. Se entiende que el microentorno tumoral alberga y/o rodea las células tumorales con las que interactúa.

Conjugados de oligonucleótidos para el suministro a células inmunitarias en el microentorno tumoral

El microentorno tumoral (TME) desempeña un papel clave en el mantenimiento del crecimiento tumoral, la invasión y, en última instancia, la metástasis. El complejo TME está compuesto en parte por células inmunitarias, fibroblastos y vasos sanguíneos. La composición de las células inmunitarias en el TME se clasifica típicamente como un tumor “frío” o “caliente”. Los tumores fríos tienen una respuesta inmunitaria atenuada debido, al menos en parte, a la presencia de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) y de linfocito T reguladores (Treg). Tanto las MDSC como los Treg atenúan la capacidad de los linfocitos T para infiltrarse en el tumor e inducir una respuesta antitumoral. Los tumores calientes muestran infiltración de linfocitos T que combaten el cáncer, lo que demuestra una respuesta antitumoral combativa. Por lo general, los tumores fríos responden menos a los tratamientos de inmunoterapia en comparación con los tumores calientes. Se necesitan tratamientos para convertir el entorno inmunitario del tumor de un entorno frío a uno caliente.

Secuencias de ARNm diana

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a una secuencia del ARNm diana en una célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral a través del ligando de direccionamiento. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando, o una porción, fragmento o hebra de estos (por ejemplo, una hebra antisentido o una hebra guía de un oligonucleótido bicatenario) se une o se hibrida con una secuencia del ARNm diana, para, de esta manera reducir la expresión del ARNm diana. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a una secuencia del ARNm diana en una célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral a través del ligando de direccionamiento con el propósito de reducir la expresión del ARNm diana *in vivo*. En algunas modalidades, la cantidad o extensión de la reducción de la expresión del ARNm diana mediante un conjugado oligonucleótido-ligando se correlaciona con la potencia del conjugado oligonucleótido-ligando. En algunas modalidades, la cantidad o extensión de la reducción de la expresión del ARNm diana mediante un conjugado oligonucleótido-ligando se correlaciona con la cantidad o extensión del beneficio terapéutico en un sujeto o paciente que tiene cáncer tratado con el conjugado oligonucleótido-ligando.

A través del examen de la secuencia de nucleótidos de los ARNm diana que incluye los ARNm de múltiples especies diferentes (por ejemplo, humano, mono cangrejero, ratón y

rata) y como un resultado de las pruebas *in vitro* e *in vivo* se ha descubierto que determinadas secuencias del ARNm diana son más susceptibles que otras a la inhibición mediada por oligonucleótidos y, por lo tanto, son útiles como secuencias diana para los conjugados oligonucleótido-ligando en la presente descripción. En algunas modalidades, una hebra sentido de un conjugado oligonucleótido-ligando (por ejemplo, conjugado lipídico de oligonucleótido de ARNi), o una porción o fragmento de este, descrito en la presente descripción, comprende una secuencia de nucleótidos que es similar (por ejemplo, que no tiene más de 4 errores de apareamiento) o es idéntica a una secuencia del ARNm diana. En algunas modalidades, una porción o región de la hebra sentido de un oligonucleótido bicatenario descrito en la presente descripción comprende una secuencia del ARNm diana.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a un ARNm que codifica un regulador de inmunosupresión expresado por una célula inmunitaria en un TME. En algunas modalidades, el regulador de la inmunosupresión afecta directa o indirectamente a la regulación inmunitaria. Por ejemplo, en algunas modalidades, el regulador de la inmunosupresión es una proteína reguladora, una proteína enzimática o una proteína de señalización. En algunas modalidades, el regulador de la inmunosupresión es un polipéptido que controla la señalización inmunitaria. En algunas modalidades, el regulador de la inmunosupresión es una enzima involucrada en el procesamiento de un polipéptido involucrado en la regulación inmunitaria. En algunas modalidades, el regulador de la inmunosupresión es un polipéptido inhibidor del punto de control. En algunas modalidades, el regulador de la inmunosupresión es un factor de transcripción. En algunas modalidades, el regulador de la inmunosupresión es una citocina. En algunas modalidades, el regulador de la inmunosupresión es un receptor de quimiocina.

Tanto los genes de tipo silvestre como los mutados que codifican los reguladores inmunitarios son capaces de modificar la respuesta inmunitaria en el TME o en el ganglio linfático que drena el tumor (TdLN). En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a un ARNm de tipo silvestre que codifica un regulador de inmunosupresión expresado por una célula inmunitaria en un TME. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a un ARNm de tipo silvestre que codifica un regulador de inmunosupresión expresado por una célula inmunitaria en un

TdLN. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a un ARNm mutado que codifica un regulador de inmunosupresión expresado por una célula inmunitaria en un TME. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a un ARNm mutado que codifica un regulador de inmunosupresión expresado por una célula inmunitaria en un TdLN. Las moléculas de ARNm mutadas producen proteínas mal plegadas o proteínas hiperactivas.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce directa o indirectamente la expresión de proteínas que contribuyen a la función supresora de las M-MDSC. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce directa o indirectamente la expresión de proteínas que contribuyen a la función supresora de las G-MDSC.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 % o al menos 95 % en una célula inmunitaria del TME. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del regulador de la inmunosupresión en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 % o aproximadamente 90 % en una célula inmunitaria del TME.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 % o al menos 95 % en una célula inmunitaria del TdLN. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del regulador de la inmunosupresión en aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 % o aproximadamente 90 % en una célula inmunitaria del TdLN.

Células inmunitarias en un microentorno tumoral

En algunos aspectos, la descripción proporciona conjugados oligonucleótido-ligando que reducen la expresión de un ARNm diana expresado en una célula inmunitaria presente en un tumor y/o microentorno tumoral. En algunas modalidades, el conjugado

oligonucleótido-ligando se dirige a una célula inmunitaria supresora en el microentorno tumoral. En algunas modalidades, el ligando de direccionamiento del conjugado suministra el oligonucleótido a una célula inmunitaria presente en un tumor.

En individuos sanos, las células mieloides inmaduras producidas a partir de la médula ósea se diferencian en granulocitos maduros, macrófagos o células dendríticas y pasan a formar parte del sistema inmunitario innato (Weiskopf y otros, MICROBIOL SPECTR. Oct; 4(5) (2016)). En afecciones patológicas tales como el cáncer, un bloqueo parcial en la diferenciación de células mieloides inmaduras en células mieloides maduras puede resultar en una expansión de la población de células mieloides inmaduras (Gabrilovitch y otros, NAT REV IMMUNOL. Mar; 9(3): 162–74 (2009)) incapaces de ayudar en la control o eliminación del cáncer. Bajo la influencia del GM-CSF secretado por células cancerosas, este exceso de células mieloides se recluta desde la médula ósea hasta el lugar del tumor (Schmid y Varner. JOURNAL OF ONCOLOGY (2010)). Una vez dentro del TME, la población de células mieloides se expande y las células ejercen funciones inmunosupresoras que les permiten suprimir los linfocitos T y los linfocitos NK a través de diferentes mecanismos (Yang y otros, FRONT. IN IMMUNOL. 11:1371 (2020)) lo que inhibe directamente una respuesta al tumor canceroso.

Las células supresoras de origen mieloide (MDSC) contribuyen a la resistencia inmunoterapéutica al inhibir activamente la proliferación de linfocitos T antitumorales y la actividad citotóxica, así como también al promover la expansión de células T reguladoras inmunosupresoras (Gabrilovich y otros, NAT REV IMMUNOL (2009) 9(3): 162-74, Law y otros, CELLS (2020) 9: 561). De esta manera, las MDSC pueden inhibir o atenuar la respuesta inmunitaria del hospedero contra un tumor. Además, estas MDSC también pueden ayudar en la difusión celular mediante la promoción de la angiogénesis, la EMT y la transición al MET, así como también en la secreción de factores tumorigénicos. (Law y otros, CELLS (2020) 9: 561). Dada su importancia en el desarrollo, el mantenimiento y la asistencia en la expansión de los tumores con los que están asociados, las MDSC son posibles dianas terapéuticas para muchos tipos de tumores si pueden atacarse específicamente. Las MDSC también pueden encontrarse en los ganglios linfáticos que drenan el tumor (TdLN) donde pueden tener un efecto supresor sobre los linfocitos T vírgenes que también se encuentran en los ganglios linfáticos que drenan el tumor (Swatz y

otros, NAT REV CANCER (2012) 12: 210-19). La supresión de linfocitos T vírgenes puede sentar las bases para que los tumores metastaticen en los ganglios linfáticos y más allá (Swatz y otros, NAT REV CANCER (2012) 12: 210-19). En conjunto, las MDSC se caracterizan por la coexpresión de marcadores de superficie celular o ARNm CD11b (un marcador para las células mieloides del linaje de macrófagos) y Gr-1 (un marcador para el antígeno de diferenciación del linaje mieloide) y se denotan como células CD11b⁺Gr-1⁺. Gr-1 se compone además por 2 componentes Ly6G y Ly6C. Las MDSC consisten en dos subconjuntos: Las MDSC granulocíticas (G-MDSC), caracterizadas además como CD11b⁺Ly6G⁺Ly6C^{lo}, y las MDSC monocíticas (M-MDSC) caracterizadas como CD11b⁺Ly6G⁻Ly6C^{hi}. Los marcadores de ARNm *Ly6G*, *Cxcr2*, *Slc27a2* y *Ptgs2* se expresan preferentemente por las G-MDSC y no por las M-MDSC. La expresión de marcadores específicos tales como *Cxcr2*, *Scl27a2* y *Ptgs2* sugiere la actividad de reclutamiento y supresión de las G-MDSC en el TME. Asimismo, los marcadores de ARNm *Ly6C*, *Scarb1*, *Ldlr* y *Arg1* se expresan altamente por las M-MDSC en comparación con las G-MDSC. Una mayor expresión de los receptores de tráfico lipídico tales como *Scarb1* y *Ldlr* en las M-MDSC puede desempeñar un papel clave en la captación de lípidos. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a una célula inmunitaria residente en el tumor. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a una célula inmunitaria en el ganglio linfático que drena el tumor (TdLN). En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a un ARNm en una célula inmunitaria residente en un tumor. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a un ARNm en una célula inmunitaria en el ganglio linfático que drena el tumor (TdLN).

En algunas modalidades, la célula inmunitaria es una célula mieloide supresora. En algunas modalidades, la célula inmunitaria es una célula supresora de origen mieloide (MDSC). En algunas modalidades, la MDSC es una MDSC granulocítica (G-MDSC). En algunas modalidades, la MDSC es una MDSC monocítica (M-MDSC).

En algunas modalidades, la célula inmunitaria es un linfocito T. En algunas modalidades, el linfocito T es un linfocito T CD8⁺. En algunas modalidades, el linfocito T es un linfocito Treg.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce un ARNm diana en

una MDSC residente del tumor y/o del ganglio linfático que drena el tumor. En algunas modalidades, el conjugado de oligonucleótido reduce un ARNm diana en una G-MDSC residente en el tumor y/o de ganglio linfático que drena el tumor. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce un ARNm diana en una M-MDSC residente en el tumor y/o en ganglio linfático que drena el tumor. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce un ARNm diana en un linfocito Treg residente en el tumor y/o en ganglio linfático que drena el tumor. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce un ARNm diana en más de un tipo de célula inmunitaria residente en el tumor y/o en ganglio linfático que drena el tumor. Por ejemplo, en algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce un ARNm diana en una MDSC (por ejemplo, M-MDSC y/o G-MDSC) y en un linfocito T (por ejemplo, linfocito T CD8+ y/o linfocito Treg).

En algunas modalidades, la actividad inmunosupresora de la célula inmunitaria (por ejemplo, MDSC o linfocito Treg) se reduce después del contacto con el conjugado oligonucleótido-ligando.

La actividad inmunosupresora se mide mediante el uso de métodos conocidos en la técnica. En uno de tales métodos, los niveles de Arginasa I se miden en células inmunitarias tumorales aisladas en comparación con las células inmunitarias de control. Los niveles altos de Arginasa I en las células inmunitarias residentes en el tumor (por ejemplo, células mieloides) son indicativos de un entorno inmunosupresor. Adicionalmente, en algunas modalidades, el número de células inmunosupresoras residentes en el tumor indica el nivel de actividad supresora. En algunas modalidades, los ensayos de supresión de linfocitos T y/o ensayos de liberación de citocinas se usan para medir la actividad supresora de una célula inmunitaria.

Cánceres

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando descrito en la presente descripción se dirige a células inmunitarias en un tumor. En algunas modalidades, el tumor es un tumor primario. En algunas modalidades, el tumor es un tumor metastásico. En algunas modalidades, el tumor es un tumor resistente. En algunas modalidades, el tumor es un tumor en estadio I, estadio II, estadio III o estadio IV. En algunas modalidades, el tumor es un tumor sólido. Los tumores sólidos se refieren a afecciones donde el cáncer forma una

masa

En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer de tiroides, carcinoma papilar de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, carcinoma, blastoma, meduloblastoma, retinoblastoma, sarcoma, liposarcoma, sarcoma de células sinoviales, tumores neuroendocrinos, tumores carcinoides, gastrinoma, cáncer de células de los islotes, mesotelioma, schwannoma, neuroma acústico, meningioma, adenocarcinoma, neoplasias malignas linfoides, cáncer de células escamosas, cáncer epitelial de células escamosas, cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC), cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), adenocarcinoma de pulmón, carcinoma escamoso de pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago, cáncer gastrointestinal, glioblastoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama metastásico, cáncer de colon, cáncer rectal, carcinoma uterino o de endometrio, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer renal o de riñón, cáncer de próstata, cáncer de vulva, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pene, cáncer de células de Merkel, cáncer testicular, cáncer esofágico, o tumores de las vías biliares. En algunas modalidades, el cáncer es resistente al tratamiento con anti-PD1, anti-PDL1 y/o anti-CTLA4. En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer de páncreas o cáncer de pulmón. En algunas modalidades, el cáncer comprende tumores con microentornos tumorales inmunosupresores.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se suministra al tumor y reduce la expresión de un ARNm diana en una célula inmunitaria residente en el tumor.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce el volumen tumoral. El volumen tumoral se mide mediante métodos conocidos por un experto en la técnica. Por ejemplo, los tumores extraídos se miden manualmente mediante el uso de calibradores. Otros métodos incluyen métodos imagenológicos tales como ultrasonido y MRI. En algunas modalidades, el conjugado de oligonucleótidos reduce el volumen tumoral en al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 % o al menos 90 % en comparación con un tumor no tratado.

Los ganglios linfáticos que drenan el tumor (TdLN) son generalmente el primer lugar de

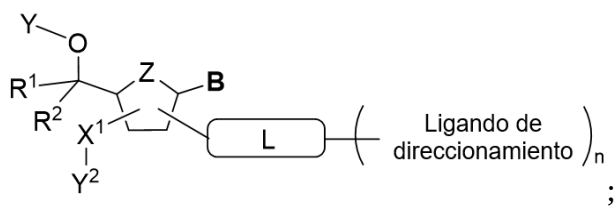
metástasis para el cáncer. En algunas modalidades, el conjugado de oligonucleótidos se dirige a células inmunitarias en el ganglio linfático que drena el tumor. En algunas modalidades, el ganglio linfático que drena el tumor es el subsegmentario, segmentado, lobar, interlobar, hiliar, mediastínico, supratroclear, deltoideopectoral, lateral, pectoral, subescapular, intermedio, subclavicular, inguinal superficial, inguinal profundo, poplíteo, buccinadores faciales, nasolabial facial, próstata, mandibular, submentoniano, occipital, mastoides/retroauricular, parótida, preauricular profundo, infraauricular profundo, intraglandular profundo, cervical profundo, cervical anterior profundo, pretraqueal, paratraqueal, prelaríngeo, tiroides, cervical lateral profundo, cervical superior profundo, cervical inferior profundo, retrofaríngeo, jugulodigástrico, cervical anterior, cervical lateral, supraclavicular, retroaórtico, aórtica lateral, celíaco, gástrico, hepático, esplénico, mesentérico superior, mesentérico, ileocólico, mesocólico, mesentérico inferior, o ganglio linfático pararrectal. En algunas modalidades, el ganglio linfático que drena el tumor es un ganglio linfático que drena el tumor primario. En algunas modalidades, el ganglio linfático que drena el tumor es un ganglio linfático que drena una metástasis tumoral.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando no se dirige a las células inmunitarias en no TdLN. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando no se dirige a las células cancerosas.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando se dirige a las células inmunitarias tanto en el tumor como en los ganglios linfáticos que drenan el tumor. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce el ARNm diana en células inmunitarias en un TdLN en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 % o al menos 90 %.

Estructura de los conjugados oligonucleótido-ligando de direccionamiento

En algunas modalidades, un conjugado oligonucleótido-ligando descrito en la presente descripción comprende una secuencia de nucleótidos y uno o más ligandos de direccionamiento, en donde la secuencia de nucleótidos comprende uno o más nucleósidos (ácidos nucleicos) conjugados con uno o más ligandos de direccionamiento representados por la fórmula I-a:



I-a

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde:

B es una nucleobase o hidrógeno;

R^1 y R^2 son independientemente hidrógeno, halógeno, R^A , -CN, -S(O)R, -S(O)₂R, -Si(OR)₂R, -Si(OR)R₂, o -SiR₃; o

R^1 y R^2 en el mismo carbono se toman junto con sus átomos intermedios para formar un anillo saturado o parcialmente insaturado de 3-7 miembros que tiene 0-3 heteroátomos, seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre;

cada R^A es independientemente un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de alifático C₁₋₆, fenilo, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre;

cada R es independientemente hidrógeno, un grupo protector adecuado, o un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de alifático C₁₋₆, fenilo, un heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre; o

dos grupos R en el mismo átomo se toman junto con sus átomos intermedios para formar un anillo saturado, parcialmente insaturado de 4-7 miembros o heteroarilo que tiene 0-3 heteroátomos, seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, silicio y azufre;

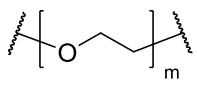
cada ligando de direccionamiento se selecciona de porción de conjugado lipídico (LC), carbohidrato, aminoazúcar o GalNAC; y en donde cada LC es independientemente una porción de conjugado lipídico que comprende una cadena hidrocarbonada C₁₋₅₀ saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena

hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -Cy-, -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -C(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, -P(S)OR-;

cada -Cy- es independientemente un anillo bivalente sustituido opcionalmente seleccionado de fenilenilo, un arilenilo bicíclico de 8-10 miembros, un carbociclilenilo saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un espirocarbociclilenilo saturado o parcialmente insaturado de 4-11 miembros, un carbociclilenilo bicíclico saturado o parcialmente insaturado de 8-10 miembros, un heterociclilenilo saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, un espiro heterociclilenilo saturado o parcialmente insaturado de 4-11 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, un heterociclilenilo bicíclico saturado o parcialmente insaturado de 8-10 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, un heteroarilenilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, o un heteroarilenilo bicíclico de 8-10 miembros que tiene 1-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre;

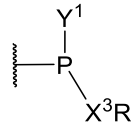
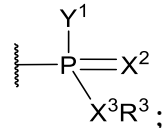
n es 1-10;

L es un enlace covalente o una cadena hidrocarbonada C₁₋₅₀ bivalente saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -Cy-, -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -C(O)-, -C(O)O-, -

S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, -P(S)OR-, -V¹CR²W¹-, o  ;

m es 1-50;

X¹, V¹ y W¹ son independientemente -C(R)₂-, -OR-, -O-, -S-, -Se-, o -NR-;

Y es hidrógeno, un grupo protector de hidroxilo adecuado,  , o  ;

R³ es hidrógeno, un grupo protector adecuado, un profármaco adecuado, o un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de alifático C₁₋₆, fenilo, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo

de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre;

X^2 es O, S o NR;

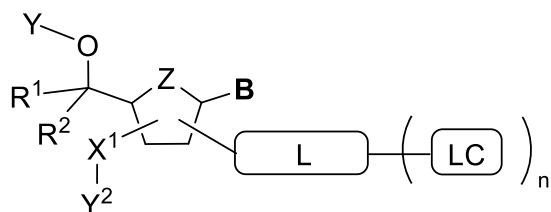
X^3 es -O-, -S-, -BH₂-, o un enlace covalente;

Y^1 es un grupo de enlace que se une al extremo terminal 2' o 3' de un nucleósido, un nucleótido, o un oligonucleótido;

Y^2 es hidrógeno, un grupo protector adecuado, un análogo de fosforamidita, un grupo de enlace internucleotídico que se une al extremo terminal 5' de un nucleósido, un nucleótido o un oligonucleótido, o un grupo de enlace que se une a un soporte sólido; y

Z es -O-, -S-, -NR- o -CR₂-.

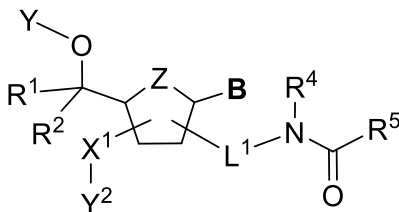
En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende uno o más ácidos nucleicos conjugados con ligandos de direccionamiento representados por la fórmula II-a:



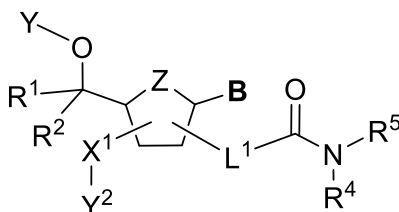
II-a.

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende uno o más ácidos nucleicos conjugados con ligandos de direccionamiento representados por la fórmula II-b o II-c:



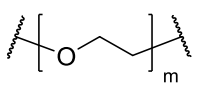
II-b



II-c

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

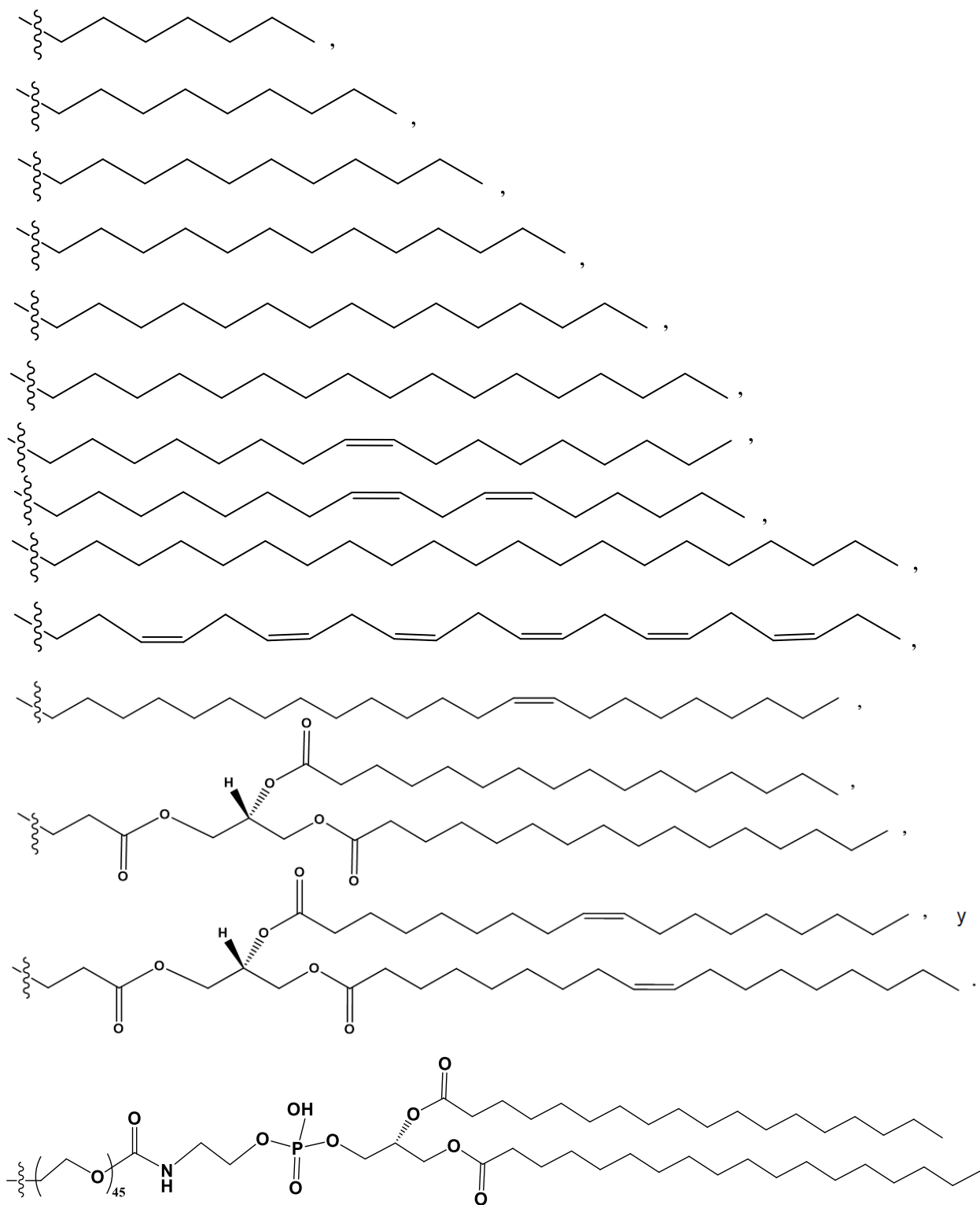
L¹ es un enlace covalente, una cadena hidrocarbonada C₁₋₅₀ monovalente o bivalente saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -Cy-, -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -

C(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, -P(S)OR-, o  ;

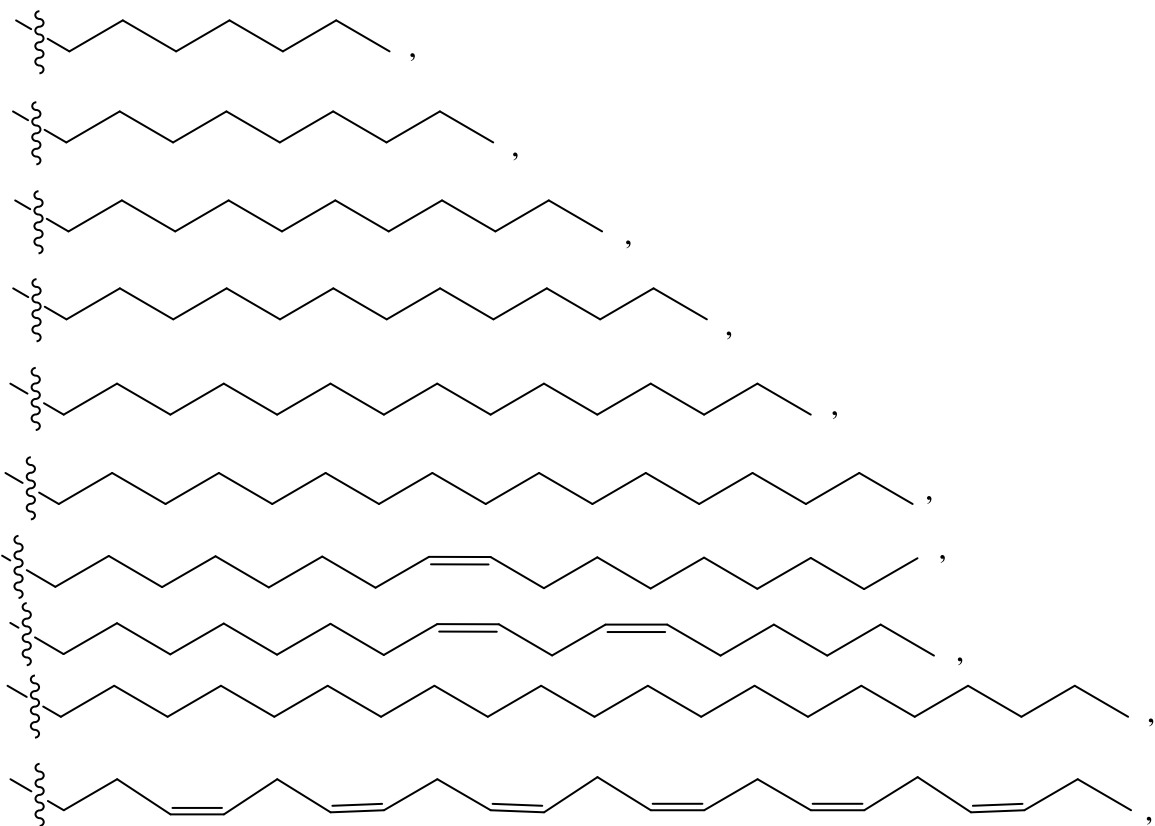
R⁴ es hidrógeno, R^A o un grupo protector de aminas adecuado; y

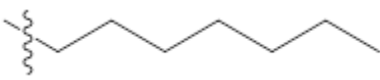
R⁵ es adamantilo, o una cadena hidrocarbonada C₁₋₅₀ saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -C(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, o -P(S)OR.

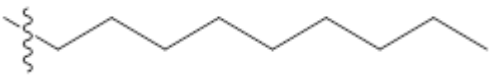
En algunas modalidades, R⁵ se selecciona de

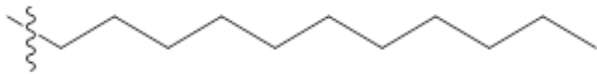


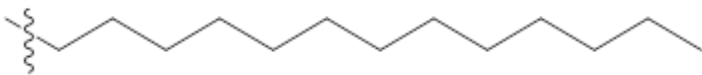
En algunas modalidades, R⁵ se selecciona de:

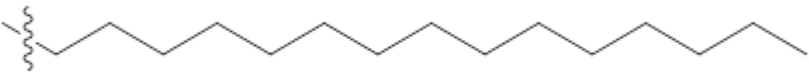


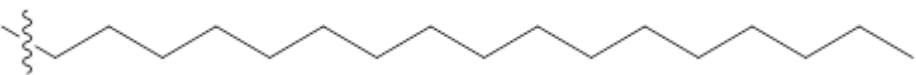
En algunas modalidades, R^5 es  . En algunas modalidades,

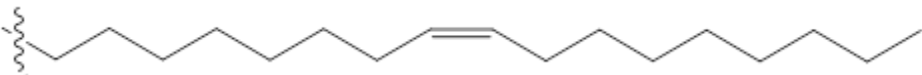
R^5 es  . En algunas modalidades, R^5 es

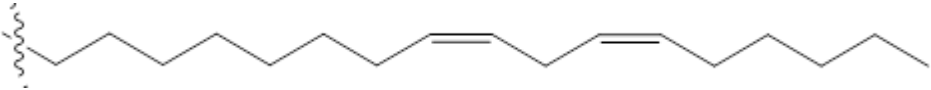
 . En algunas modalidades, R^5 es

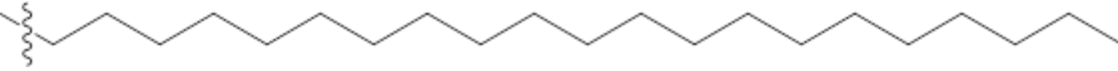
 . En algunas modalidades, R^5 es

 . En algunas modalidades,

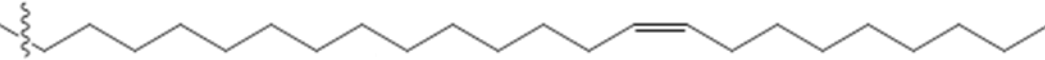
R^5 es  . En algunas

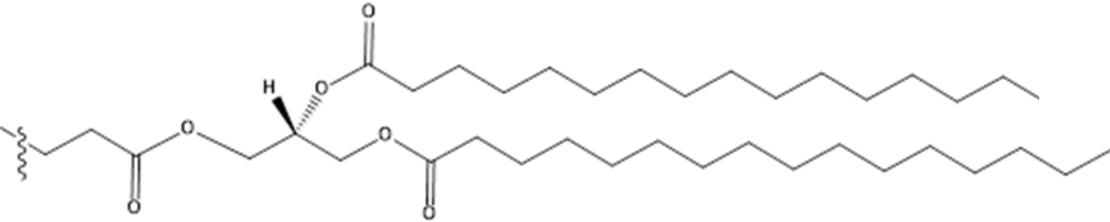
modalidades, R^5 es  . En algunas modalidades, R^5 es

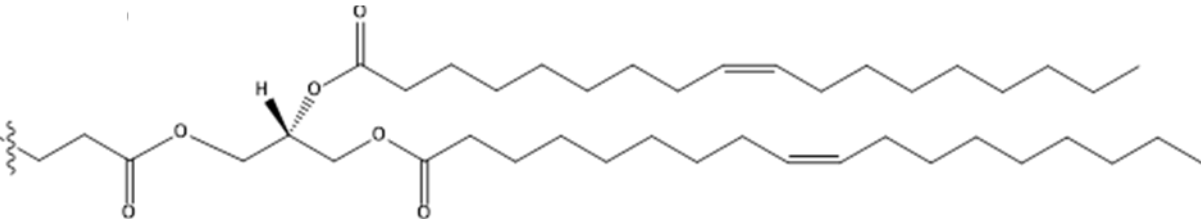
 . En algunas modalidades, R⁵ es

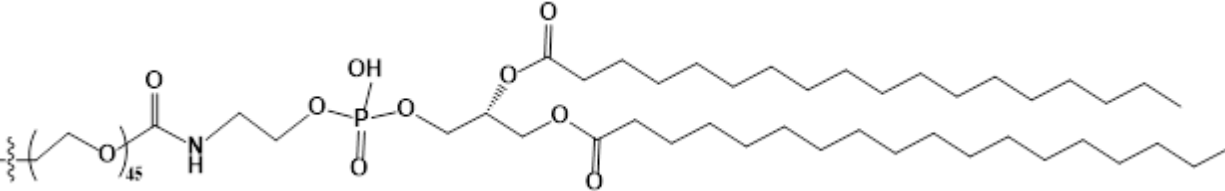
 . En algunas modalidades, R⁵ es

 . En algunas modalidades, R⁵ es

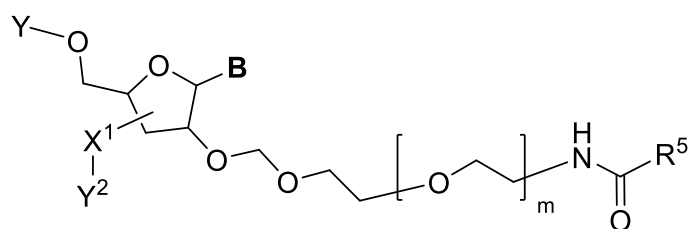
 . En algunas modalidades, R⁵ es

 . En algunas modalidades, R⁵ es

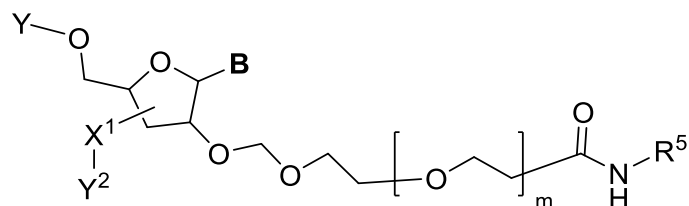
 . En algunas modalidades, R⁵ es

 .

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende uno o más ácidos nucleicos conjugados con ligandos de direccionamiento representados por la fórmula II-Ib o II-Ic:



II-Ib



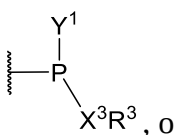
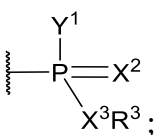
II-Ic

o una sal farmacéuticamente aceptable de este; en donde

B es una nucleobase o hidrógeno;

m es 1-50;

X¹ es -O-, o -S-;

Y es hidrógeno, , o ;

R³ es hidrógeno, o un grupo protector adecuado;

X² es O, o S;

X³ es -O-, -S-, o un enlace covalente;

Y¹ es un grupo de enlace que se une al extremo terminal 2' o 3' de un nucleósido, un nucleótido, o un oligonucleótido;

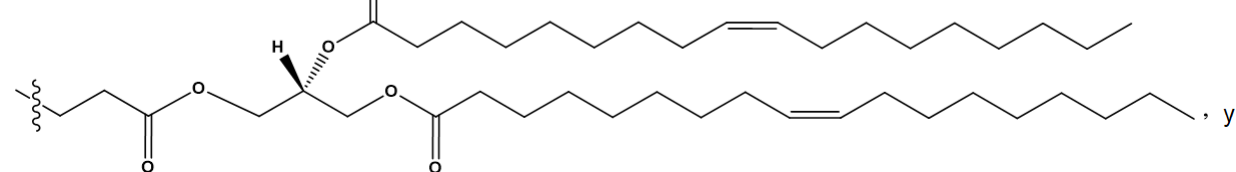
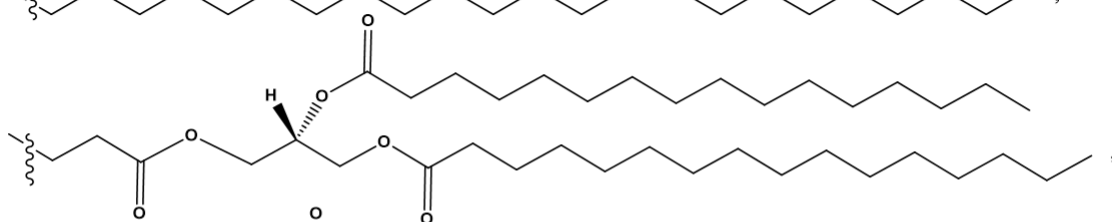
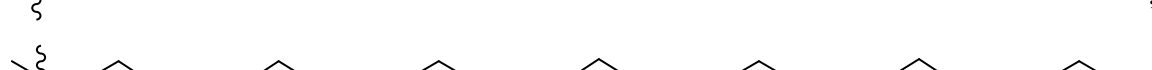
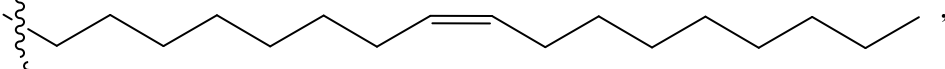
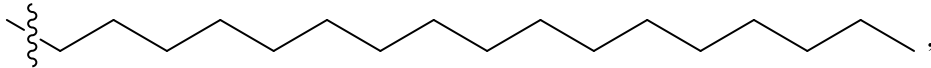
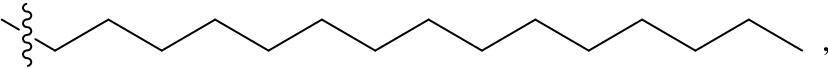
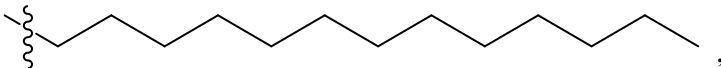
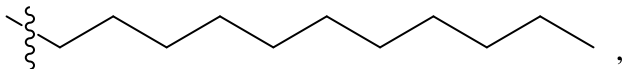
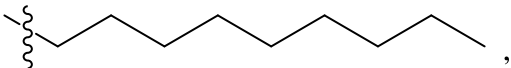
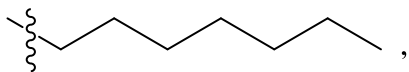
Y² es hidrógeno, un análogo de fosforamidita, un grupo de enlace internucleotídico que se une al extremo terminal 5' de un nucleósido, un nucleótido o un oligonucleótido, o un grupo de enlace que se une a un soporte sólido;

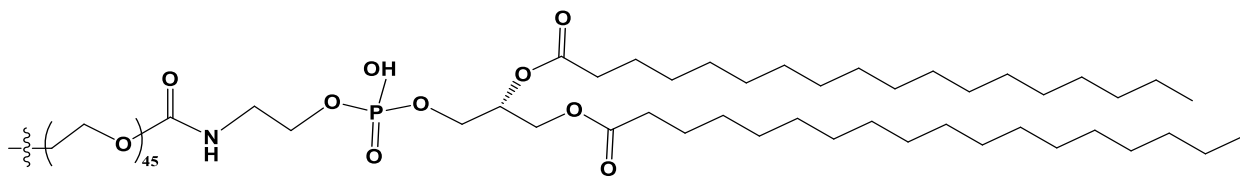
R⁵ es adamantilo, o una cadena hidrocarbonada C₁₋₅₀ saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -C(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, o -P(S)OR-; y

R es hidrógeno, un grupo protector adecuado, o un grupo sustituido opcionalmente

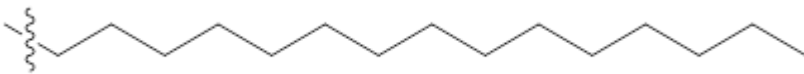
seleccionado de alifático C₁₋₆, fenilo, un heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre.

En algunas modalidades, R⁵ se selecciona de

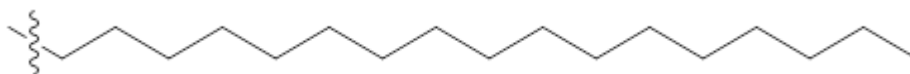




En algunas modalidades, R^5 es



En algunas modalidades, R^5 es



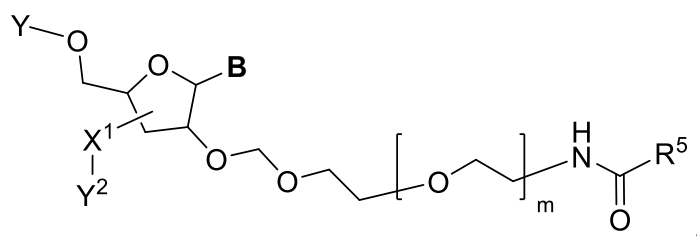
En algunas modalidades, la secuencia de nucleótidos del oligonucleótido comprende 1-10 ligandos de direccionamiento. En algunas modalidades, la secuencia de nucleótidos comprende 1, 2 o 3 ligandos de direccionamiento.

En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando es una molécula bicatenaria. En algunas modalidades, el oligonucleótido es una molécula de ARNi. En algunas modalidades, el oligonucleótido bicatenario comprende una estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con cualquiera de los nucleótidos en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con el primer nucleótido de 5' a 3', en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con el segundo nucleótido de 5' a 3' en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con el tercer nucleótido de 5' a 3' en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con el cuarto nucleótido de 5' a 3' en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con uno, dos, tres o cuatro de los nucleótidos en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con tres de los nucleótidos en la estructura de tallo y lazo.

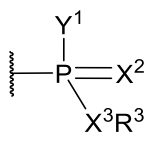
En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende una hebra sentido de 36 nucleótidos con posiciones numeradas 1-36 de 5' a 3'. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende un lípido conjugado a la posición 27 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende un lípido conjugado a la posición 28 de una hebra

sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende un lípido conjugado a la posición 29 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende un lípido conjugado a la posición 30 de una hebra sentido de 36 nucleótidos.

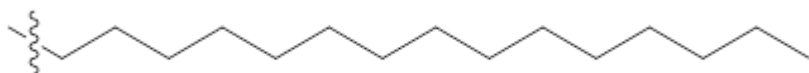
En algunas modalidades, un conjugado oligonucleótido-ligando comprende una hebra antisentido de 15 a 30 nucleótidos y una hebra sentido de 15 a 40 nucleótidos, en donde las hebras sentido y antisentido forman una región híbrida, en donde la hebra antisentido comprende una región de complementariedad con una secuencia diana expresada en una célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral, en donde la hebra sentido comprende en su extremo 3' una estructura de tallo y lazo que comprende un tetralazo que comprende 4 nucleósidos, en donde uno o más de los 4 nucleósidos se representan por la fórmula II-Ib:



en donde B se selecciona de una nucleobase de adenina y guanina, y en donde R^5 es una cadena hidrocarbonada. En algunas modalidades, m es 1, X1 es O, Y2 es un grupo de enlace internucleotídico que se une al extremo terminal 5' de un nucleósido,



Y está representado por X^3R^3 , Y1 es un grupo de enlace que se une al extremo terminal 2' o 3' de un nucleótido, X2 es O, X3 es O y R3 es H. En algunas modalidades, la cadena hidrocarbonada es una cadena hidrocarbonada C8-C30. En algunas modalidades, la cadena hidrocarbonada es una cadena hidrocarbonada C16. En algunas modalidades, la cadena hidrocarbonada C16 está representada por



. En algunas modalidades, los 4 nucleósidos del tetralazo están numerados 1-4 de 5' a 3' y la posición 1 está representada por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la posición 2 está representada

por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la posición 3 está representada por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la posición 4 está representada por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la hebra sentido es de 36 nucleótidos con posiciones numeradas 1-36 de 5' a 3', en donde la estructura de tallo y lazo comprende nucleótidos en las posiciones 21-36, y en donde uno o más nucleósidos en las posiciones 27-30 están representados por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la hebra antisentido es de 22 nucleótidos.

En algunos aspectos, la descripción proporciona conjugados oligonucleótido-ligando para dirigirse a un ARNm diana (por ejemplo, un ARNm diana que regula la inmunosupresión) e inhibir o reducir la expresión génica de la diana (por ejemplo, a través de la vía de ARNi), en donde el conjugado oligonucleótido-ligando es una molécula de ácido nucleico bicatenario (bc) que comprende una hebra sentido (también denominada en la presente descripción como una cadena pasajera) y una hebra antisentido (también denominada en la presente descripción como una cadena guía). En algunas modalidades, la hebra sentido y la hebra antisentido son hebras separadas y no están unidas covalentemente. En algunas modalidades, la hebra sentido y la hebra antisentido están unidas covalentemente. En algunas modalidades, la hebra sentido y la hebra antisentido forman una región híbrida, en donde la hebra sentido y la hebra antisentido, o una porción de estas, se unen o se hibridan entre sí de manera complementaria (por ejemplo, mediante apareamiento de bases Watson-Crick).

En algunas modalidades, la hebra sentido tiene una primera región (R1) y una segunda región (R2), en donde R2 comprende una primera subregión (S1), un lazo (L) tal como un tetralazo (tetraL) o trilazo (triL) y una segunda subregión (S2), en donde L o triL se ubican entre S1 y S2, y en donde S1 y S2 forman un segundo híbrido (D2). D2 puede tener varias longitudes. En algunas modalidades, D2 es de aproximadamente 1-6 pb de longitud. En algunas modalidades, D2 es de 2-6, 3-6, 4-6, 5-6, 1-5, 2-5, 3-5 o 4-5 pb de longitud. En algunas modalidades, D2 es de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 pb de longitud. En algunas modalidades, D2 es de 6 pb de longitud.

En algunas modalidades, R1 de la hebra sentido y la hebra antisentido forman un primer híbrido (D1). En algunas modalidades, D1 es de al menos aproximadamente 15 (por ejemplo, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20 o al menos 21) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, D1 está en el intervalo de

aproximadamente 12 a 30 nucleótidos de longitud (por ejemplo, una longitud de 12 a 30, de 12 a 27, de 15 a 22, de 18 a 22, de 18 a 25, de 18 a 27, de 18 a 30 o de 21 a 30 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, D1 es de al menos 12 nucleótidos de longitud (por ejemplo, al menos 12, al menos 15, al menos 20, al menos 25 o al menos 30 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, D1 es de 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, D1 es de 19 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, D1 es de 20 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, D1 que comprende la hebra sentido y la hebra antisentido no abarca la longitud completa de la hebra sentido y/o de la hebra antisentido. En algunas modalidades, D1 que comprende la hebra sentido y la hebra antisentido abarca toda la longitud de la hebra sentido o la hebra antisentido o ambas. En determinadas modalidades, D1 que comprende la hebra sentido y la hebra antisentido abarca toda la longitud tanto de la hebra sentido como de la hebra antisentido.

Se apreciará que, en algunas modalidades, puede hacerse referencia a las secuencias presentadas en el Listado de secuencias al describir la estructura de un oligonucleótido (por ejemplo, un conjugado oligonucleótido-ligando) u otro ácido nucleico. En tales modalidades, el oligonucleótido real u otro ácido nucleico puede tener uno o más nucleótidos alternativos (por ejemplo, una contraparte de ARN de un nucleótido de ADN o una contraparte de ADN de un nucleótido de ARN) y/o uno o más nucleótidos modificados y/o uno o más enlaces internucleotídicos modificados y/o una o más modificaciones cuando se compara con la secuencia especificada conservando propiedades complementarias esencialmente iguales o similares a las de la secuencia especificada.

En algunas modalidades, un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción comprende una hebra sentido de 25 nucleótidos y una hebra antisentido de 27 nucleótidos que cuando actúan sobre una enzima Dicer, resulta en una hebra antisentido que se incorpora al RISC maduro. En algunas modalidades, la hebra sentido del conjugado oligonucleótido-ligando tiene más de 27 nucleótidos (por ejemplo, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 nucleótidos). En algunas modalidades, la hebra sentido del conjugado oligonucleótido-ligando tiene más de 25 nucleótidos (por ejemplo, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos).

En algunas modalidades, los conjugados oligonucleótido-ligando en la presente descripción

tienen un extremo 5' que es termodinámicamente menos estable cuando se compara con el otro extremo 5'. En algunas modalidades, se proporciona un conjugado oligonucleótido-ligando asimétrico que comprende un extremo romo en el extremo 3' de una hebra sentido y un saliente 3' en el extremo 3' de una hebra antisentido. En algunas modalidades, el saliente 3' en la hebra antisentido es de aproximadamente 1-8 nucleótidos de longitud (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleótidos de longitud). Típicamente, un conjugado oligonucleótido-ligando tiene un saliente de dos nucleótidos en el extremo 3' de la hebra antisentido (guía). Sin embargo, son posibles otros salientes. En algunas modalidades, un saliente es un saliente 3' que comprende una longitud de entre 1 y 6 nucleótidos, opcionalmente de 1 a 5, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2, de 2 a 6, de 2 a 5, de 2 a 4, de 2 a 3, de 3 a 6, de 3 a 5, de 3 a 4, de 4 a 6, de 4 a 5, de 5 a 6 nucleótidos, o 1, 2, 3, 4, 5 o 6 nucleótidos. Sin embargo, en algunas modalidades, el saliente es un saliente 5' que comprende una longitud de entre 1 y 6 nucleótidos, opcionalmente de 1 a 5, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2, de 2 a 6, de 2 a 5, de 2 a 4, de 2 a 3, de 3 a 6, de 3 a 5, de 3 a 4, de 4 a 6, de 4 a 5, de 5 a 6 nucleótidos, o 1, 2, 3, 4, 5 o 6 nucleótidos.

En algunas modalidades, se modifican dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de una hebra antisentido. En algunas modalidades, los dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de la hebra antisentido son complementarios con el ARNm diana (por ejemplo, un ARNm diana que regula la inmunosupresión). En algunas modalidades, los dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de la hebra antisentido no son complementarios con el ARNm diana. En algunas modalidades, los dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de la hebra antisentido de un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción no están apareados. En algunas modalidades, los dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de la hebra antisentido de un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción comprenden un GG no apareado. En algunas modalidades, los dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de una hebra antisentido de un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción no son complementarios al ARNm diana. En algunas modalidades, dos nucleótidos terminales en cada extremo 3' de un conjugado oligonucleótido-ligando son GG. Típicamente, uno o ambos de los dos nucleótidos GG terminales en cada extremo 3' de un oligonucleótido bicatenario (por ejemplo, un conjugado de oligonucleótido de ARNi) no es complementario con el ARNm diana.

En algunas modalidades, existe uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) errores de apareamiento entre las hebras sentido y antisentido. Si existe más de un error de apareamiento entre una hebra sentido y antisentido, pueden ubicarse consecutivamente (por ejemplo, 2, 3 o más seguidos), o intercalados en toda la región de complementariedad. En algunas modalidades, el extremo 3' de la hebra sentido contiene uno o más errores de apareamiento. En algunas modalidades, se incorporan dos errores de apareamiento en el extremo 3' de la hebra sentido. En algunas modalidades, los errores de apareamiento de bases o la desestabilización de segmentos en el extremo 3' de la hebra sentido de un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción mejoran o aumentan la potencia y/o eficacia del conjugado oligonucleótido-ligando.

En algunas modalidades, el ligando de direccionamiento es un GalNAc como se describió en la presente descripción. En algunas modalidades, el ligando de direccionamiento es un carbohidrato. En algunas modalidades, el ligando de direccionamiento es un aminoazúcar.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende dos o más ligandos de direccionamiento, en donde los ligandos de direccionamiento son diferentes. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende dos o más ligandos de direccionamiento, en donde los ligandos de direccionamiento son los mismos.

Oligonucleótidos ilustrativos

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando comprende un oligonucleótido conjugado con un ácido graso. En algunas modalidades, el ácido graso es un ácido graso saturado. En algunas modalidades, el ácido graso es un ácido graso insaturado. En algunas modalidades, el oligonucleótido se conjuga con un lípido. En algunas modalidades, el lípido es una cadena de carbono. En algunas modalidades, la cadena de carbono está saturada. En algunas modalidades, la cadena de carbono está insaturada. En algunas modalidades, el oligonucleótido se conjuga con un lípido de 16 carbonos (C16). En algunas modalidades, el lípido de C16 comprende al menos un enlace doble. En algunas modalidades, el oligonucleótido se conjuga con un lípido de 18 carbonos (C18). En algunas modalidades, el lípido de C18 comprende al menos un enlace doble. En algunas modalidades, el oligonucleótido se conjuga con un lípido de 22 carbonos (C22). En algunas modalidades, el lípido de C22 comprende al menos un enlace doble. En algunas modalidades, el oligonucleótido se conjuga con un lípido de 24 carbonos (C24). En algunas

modalidades, el lípido de C24 comprende al menos un enlace doble.

En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando comprende un lazo en donde al menos un nucleótido del lazo se conjuga con un lípido de C16. En algunas modalidades, el segundo nucleótido del lazo se conjuga con un lípido de C16. En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando comprende un lazo en donde al menos un nucleótido del lazo se conjuga con un lípido de C18. En algunas modalidades, el segundo nucleótido del lazo se conjuga con un lípido de C18. En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando comprende un lazo en donde al menos un nucleótido del lazo se conjuga con un lípido de C22. En algunas modalidades, el segundo nucleótido del lazo se conjuga con un lípido de C22. En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando comprende un lazo en donde al menos un nucleótido del lazo se conjuga con un lípido de C24. En algunas modalidades, el segundo nucleótido del lazo se conjuga con un lípido de C24.

En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando comprende un tetralazo en donde al menos un nucleótido del tetralazo se conjuga con un lípido de C16. En algunas modalidades, el segundo nucleótido del tetralazo se conjuga con un lípido de C16. En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando comprende un tetralazo en donde al menos un nucleótido del tetralazo se conjuga con un lípido de C18. En algunas modalidades, el segundo nucleótido del tetralazo se conjuga con un lípido de C18. En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando comprende un tetralazo en donde al menos un nucleótido del tetralazo se conjuga con un lípido de C22. En algunas modalidades, el segundo nucleótido del tetralazo se conjuga con un lípido de C22. En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando comprende un tetralazo en donde al menos un nucleótido del tetralazo se conjuga con un lípido de C24. En algunas modalidades, el segundo nucleótido del tetralazo se conjuga con un lípido de C24.

En algunas modalidades, un conjugado oligonucleótido-ligando comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un nucleósido modificado. En algunas modalidades, un conjugado oligonucleótido-ligando comprende una hebra antisentido y una hebra sentido, en donde cada hebra comprende al menos un nucleósido modificado.

[illegible]

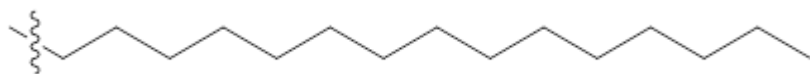
Hibridada a

Hebra antisentido: [MeFosfonato-4O-mXs][fXs][fXs][fX][fX][mX][fX][mX][mX]
[fX][mX][mX][mX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mXs][mXs][mX]

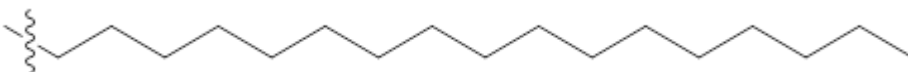
Tabla 1. Modificación clave

[MeFosfonato-4O-mX]	nucleótido modificado con 4'-O-monometilfosfonato-2'-O-metilo
ademX-TL	ligando de direccionamiento unido al nucleótido 2'-aminodietoximetanol (es decir, un ligando de direccionamiento unido a un nucleótido)
ademX-C#	Cadena hidrocarbonada unida al nucleótido 2'-aminodietoximetanol (por ejemplo, un conjugado lipídico de C16 o C18 unido a un nucleótido)
[mXs]	Nucleótido modificado con 2'-O-metilo con un enlace fosforotioato al nucleótido vecino
[fXs]	Nucleótido modificado con 2'-flúor con un enlace fosforotioato al nucleótido vecino
[mX]	Nucleótido modificado con 2'-O-metilo con enlaces fosfodiéster con nucleótidos vecinos
[fX]	Nucleótido modificado con 2'-flúor con enlaces fosfodiéster con nucleótidos vecinos

En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando se conjuga con un lípido de C16 como se muestra en:



En algunas modalidades, el oligonucleótido del conjugado oligonucleótido-ligando se conjuga con un lípido de C18 como se muestra en:



En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce el ARNm diana en células inmunitarias del TME o TdLN, pero no reduce el ARNm en células epiteliales tumorales.

Métodos de uso

i. Reducción de la expresión génica de la diana

En algunas modalidades, la descripción proporciona métodos para entrar en contacto o suministrar a una célula inmunitaria o población de células inmunitarias de un microentorno tumoral (por ejemplo, células inmunitarias residentes en el tumor) una cantidad eficaz de cualquiera de los conjugados oligonucleótido-ligando en la presente descripción para reducir la expresión génica de la diana (por ejemplo, reducir la expresión de un gen diana que codifica un regulador de inmunosupresión). En algunas modalidades, una reducción de la expresión génica de la diana se determina midiendo una reducción en la cantidad o nivel de ARNm diana, proteína codificada por el ARNm diana, o actividad del gen diana (ARNm o proteína) en una célula. Los métodos incluyen los que se describen en la presente descripción y conocidos por los expertos en la técnica.

Los métodos que se proporcionan en la presente descripción son útiles en cualquier tipo de célula inmunitaria residente en el tumor. En algunas modalidades, una célula es cualquier célula que expresa el ARNm diana. En algunas modalidades, la célula es una célula primaria que se obtiene de un sujeto. En algunas modalidades, la célula primaria ha experimentado un número limitado de pases de manera que la célula mantiene sustancialmente sus propiedades fenotípicas naturales. En algunas modalidades, una célula a la que se suministra el conjugado oligonucleótido-ligando es *ex vivo* o *in vitro* (es decir, puede suministrarse a una célula en cultivo o a un organismo en el que reside la célula).

En algunas modalidades, los conjugados oligonucleótido-ligando descritos en la presente descripción se suministran a una célula inmunitaria o población de células inmunitarias de un microentorno tumoral mediante el uso de un método de suministro de ácido nucleico conocido en la técnica que incluye, pero no se limita a, inyección de una solución o composición farmacéutica que contiene los conjugados oligonucleótido-ligando, bombardeo con partículas cubiertas por los conjugados oligonucleótido-ligando, exposición de la célula o población de células a una solución que contiene los conjugados oligonucleótido-ligando, o electroporación de membranas celulares en presencia de los

conjugados oligonucleótido-ligando. Pueden usarse otros métodos conocidos en la técnica para suministrar oligonucleótidos a las células, tal como el transporte de portadores mediado por lípidos, el transporte mediado por productos químicos y la transfección de liposomas catiónicos tal como el fosfato de calcio y otros.

En algunas modalidades, la reducción de la expresión génica de la diana se determina mediante un ensayo o técnica que evalúa una o más moléculas, propiedades o características de una célula o población de células asociadas con la expresión génica de la diana, o mediante un ensayo o técnica que evalúa moléculas que son directamente indicativas de la expresión génica de la diana en una célula o población de células (por ejemplo, ARNm o proteína de la diana). En algunas modalidades, la medida en que un conjugado oligonucleótido-ligando proporcionado en la presente descripción reduce la expresión génica de la diana (por ejemplo, reduce la expresión de un gen diana que codifica un regulador de inmunosupresión) se evalúa mediante la comparación de la expresión génica de la diana en una célula o población de células en contacto con el conjugado oligonucleótido-ligando con una célula de control o población de células (por ejemplo, una célula o población de células que no están en contacto con el conjugado oligonucleótido-ligando o en contacto con un conjugado oligonucleótido-ligando de control). En algunas modalidades, una cantidad o nivel de control de la expresión génica de la diana en una célula o población de células de control está predeterminada, de manera que no es necesario medir la cantidad o el nivel de control en todos los casos en que se realiza el ensayo o la técnica. El nivel o valor predeterminado puede tomar una variedad de formas. En algunas modalidades, un nivel o valor predeterminado puede ser un valor de corte único, tal como una mediana o una media.

La medición del ARNm en las células inmunitarias puede hacerse mediante el uso de técnicas conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, después de extraer un tumor, el tejido se disocia manual o químicamente en células individuales. La clasificación MACS se usa después para aislar las células de interés (por ejemplo, MDSC) que se recolectan y se preparan para el análisis de ARN. En algunas modalidades, el conjugado de oligonucleótidos reduce la expresión del ARNm diana en células inmunitarias del TME o TdLN durante un día a al menos 4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en células inmunitarias del

TME o TdLN durante un día, tres días, 7 días, 14 días, 21 días, 28 días o 34 días. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en células inmunitarias del TME o TdLN durante al menos 1-4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en células inmunitarias del TME o TdLN durante y hasta 2 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en células inmunitarias del TME o TdLN durante y hasta 4 semanas.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en M-MDSC durante un día y hasta al menos 4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión de ARNm diana en M-MDSC durante un día, tres días, 7 días, 14 días, 21 días, 28 días o 34 días. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión de ARNm diana en M-MDSC durante al menos 1-4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en M-MDSC durante y hasta 2 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en células inmunitarias de M-MDSC durante y hasta 4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en G-MDSC durante un día y hasta al menos 4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en G-MDSC durante un día, tres días, 7 días, 14 días, 21 días, 28 días o 34 días. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en G-MDSC durante al menos 1-4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en G-MDSC durante y hasta 2 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en células inmunitarias de G-MDSC durante y hasta 4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en Treg durante un día a al menos 4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión del ARNm diana en Treg durante un día, tres días, 7 días, 14 días, 21 días, 28 días o 34 días. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión de ARNm diana en M-MDSC durante al menos 1-4 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-

ligando reduce la expresión del ARNm diana en Treg durante y hasta 2 semanas. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la expresión de ARNm diana en células inmunitarias Treg durante hasta 4 semanas.

En algunas modalidades, el contacto o suministro de un conjugado oligonucleótido-ligando descrito en la presente descripción a una célula inmunitaria o a una población de células inmunitarias de un microentorno tumoral (por ejemplo, una célula inmunitaria residente en un tumor) resulta en una reducción en la expresión génica de la diana. En algunas modalidades, la reducción en la expresión génica de la diana es relativa a una cantidad o nivel de control de la expresión génica de la diana en una célula o población de células que no entran en contacto con el conjugado oligonucleótido-ligando o entran en contacto con un conjugado oligonucleótido-ligando de control. En algunas modalidades, la reducción de la expresión génica de la diana es aproximadamente 1 % o menor, aproximadamente 5 % o menor, aproximadamente 10 % o menor, aproximadamente 15 % o menor, aproximadamente 20 % o menor, aproximadamente 25 % o menor, aproximadamente 30 % o menor, aproximadamente 35 % o menor, aproximadamente 40 % o menor, aproximadamente 45 % o menor, aproximadamente 50 % o menor, aproximadamente 55 % o menor, aproximadamente 60 % o menor, aproximadamente 70 % o menor, aproximadamente 80 % o menor, o aproximadamente 90 % o menor con relación a una cantidad o nivel de control de la expresión génica de la diana. En algunas modalidades, la reducción de la expresión génica de la diana en una célula inmunitaria en el TME es aproximadamente 1 % o menor, aproximadamente 5 % o menor, aproximadamente 10 % o menor, aproximadamente 15 % o menor, aproximadamente 20 % o menor, aproximadamente 25 % o menor, aproximadamente 30 % o menor, aproximadamente 35 % o menor, aproximadamente 40 % o menor, aproximadamente 45 % o menor, aproximadamente 50 % o menor, aproximadamente 55 % o menor, aproximadamente 60 % o menor, aproximadamente 70 % o menor, aproximadamente 80 % o menor, o aproximadamente 90 % o menor con relación a una cantidad o nivel de control de la expresión génica de la diana. En algunas modalidades, la reducción de la expresión génica de la diana en una célula inmunitaria en el TdLN es aproximadamente 1 % o menor, aproximadamente 5 % o menor, aproximadamente 10 % o menor, aproximadamente 15 % o menor, aproximadamente 20 % o menor, aproximadamente 25 % o menor,

aproximadamente 30 % o menor, aproximadamente 35 % o menor, aproximadamente 40 % o menor, aproximadamente 45 % o menor, aproximadamente 50 % o menor, aproximadamente 55 % o menor, aproximadamente 60 % o menor, aproximadamente 70 % o menor, aproximadamente 80 % o menor, o aproximadamente 90 % o menor con relación a una cantidad o nivel de control de la expresión génica de la diana. En algunas modalidades, la reducción de la expresión génica de la diana en una M-MDSC es aproximadamente 1 % o menor, aproximadamente 5 % o menor, aproximadamente 10 % o menor, aproximadamente 15 % o menor, aproximadamente 20 % o menor, aproximadamente 25 % o menor, aproximadamente 30 % o menor, aproximadamente 35 % o menor, aproximadamente 40 % o menor, aproximadamente 45 % o menor, aproximadamente 50 % o menor, aproximadamente 55 % o menor, aproximadamente 60 % o menor, aproximadamente 70 % o menor, aproximadamente 80 % o menor, o aproximadamente 90 % o menor con relación a una cantidad o nivel de control de la expresión génica de la diana. En algunas modalidades, la reducción de la expresión génica de la diana en una G-MDSC es aproximadamente 1 % o menor, aproximadamente 5 % o menor, aproximadamente 10 % o menor, aproximadamente 15 % o menor, aproximadamente 20 % o menor, aproximadamente 25 % o menor, aproximadamente 30 % o menor, aproximadamente 35 % o menor, aproximadamente 40 % o menor, aproximadamente 45 % o menor, aproximadamente 50 % o menor, aproximadamente 55 % o menor, aproximadamente 60 % o menor, aproximadamente 70 % o menor, aproximadamente 80 % o menor, o aproximadamente 90 % o menor con relación a una cantidad o nivel de control de la expresión génica de la diana. En algunas modalidades, la reducción de la expresión génica de la diana en un Treg es aproximadamente 1 % o menor, aproximadamente 5 % o menor, aproximadamente 10 % o menor, aproximadamente 15 % o menor, aproximadamente 20 % o menor, aproximadamente 25 % o menor, aproximadamente 30 % o menor, aproximadamente 35 % o menor, aproximadamente 40 % o menor, aproximadamente 45 % o menor, aproximadamente 50 % o menor, aproximadamente 55 % o menor, aproximadamente 60 % o menor, aproximadamente 70 % o menor, aproximadamente 80 % o menor, o aproximadamente 90 % o menor con relación a una cantidad o nivel de control de la expresión génica de la diana. En algunas modalidades, la cantidad o nivel de control de la expresión génica de la diana es una

cantidad o nivel de ARNm diana y/o proteína en una célula o población de células que no se ha puesto en contacto con un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción. En algunas modalidades, el efecto del suministro de un conjugado oligonucleótido-ligando a una célula inmunitaria o población de células inmunitarias de un microentorno tumoral (por ejemplo, una célula inmunitaria residente en el tumor) de acuerdo con un método de la presente descripción se evalúa después de un período o cantidad de tiempo finitos (por ejemplo, minutos, horas, días, semanas, meses). Por ejemplo, en algunas modalidades, la expresión génica de la diana se determina en una célula inmunitaria o una población de células inmunitarias de un microentorno tumoral (por ejemplo, una célula inmunitaria residente en el tumor) al menos aproximadamente 4 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 24 horas; o al menos aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 7 días, aproximadamente 8 días, aproximadamente 9 días, aproximadamente 10 días, aproximadamente 11 días, aproximadamente 12 días, aproximadamente 13 días, aproximadamente 14 días, aproximadamente 21 días, aproximadamente 28 días, aproximadamente 35 días, aproximadamente 42 días, aproximadamente 49 días, aproximadamente 56 días, aproximadamente 63 días, aproximadamente 70 días, aproximadamente 77 días, o aproximadamente 84 días o más después de poner en contacto o suministrar el conjugado oligonucleótido-ligando a la célula o población de células. En algunas modalidades, la expresión génica de la diana se determina en una célula inmunitaria o población de células inmunitarias de un microentorno tumoral (por ejemplo, una célula inmunitaria residente en el tumor) al menos aproximadamente 1 mes, aproximadamente 2 meses, aproximadamente 3 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses o aproximadamente 6 meses o más después de estar en contacto o suministrar el conjugado oligonucleótido-ligando a la célula o población de células.

Reducir la actividad de las células inmunosupresoras en un tumor, tal como Treg o MDSC, es una estrategia potencial para convertir los tumores fríos en tumores calientes. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando convierte un tumor frío en un tumor caliente. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando mejora la actividad

inmunitaria antitumoral mediante la reducción de la actividad inmunosupresora. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando mejora la actividad de los linfocitos T antitumorales mediante la reducción de la actividad de las células inmunosupresoras (por ejemplo, MDSC).

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando mejora la actividad antitumoral mediante la reducción de la actividad inmunosupresora de las MDSC. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando mejora la actividad antitumoral mediante la reducción de la actividad inmunosupresora de las M-MDSC. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando mejora la actividad antitumoral mediante la reducción de la actividad inmunosupresora de las G-MDSC. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando mejora la actividad antitumoral mediante la reducción de la actividad inmunosupresora de los Treg. En algunas modalidades, los métodos para medir la actividad antitumoral incluyen, pero no se limitan a, medir el número de linfocitos infiltrantes tumorales en el tumor.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la actividad inmunosupresora de las M-MDSC a una cantidad suficiente para convertir un tumor frío en un tumor caliente. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la actividad inmunosupresora de las G-MDSC a una cantidad suficiente para convertir un tumor frío en un tumor caliente. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce la actividad inmunosupresora de Treg a una cantidad suficiente para convertir un tumor frío en un tumor caliente. Los métodos para determinar si un tumor frío se ha convertido en un tumor caliente incluyen, pero no se limitan a, medir la respuesta del tumor a una inmunoterapia (por ejemplo, polipéptido inhibidor de punto de control).

ii. Métodos de tratamiento y uso médico

En algunos aspectos, la descripción proporciona conjugados oligonucleótido-ligando para usar, o adaptables para usar, para tratar a un sujeto (por ejemplo, un humano) con cáncer que se beneficiaría de la reducción de un gen diana (por ejemplo, un gen diana que codifica un regulador de inmunosupresión). En algunos aspectos, la descripción proporciona conjugados oligonucleótido-ligando para usar, o adaptados para usar, para tratar a un sujeto que tiene cáncer. En algunos aspectos, la descripción proporciona conjugados oligonucleótido-ligando para usar, o adaptados para usar, para tratar a un sujeto que tiene

cáncer asociado con un TME inmunosupresor. La descripción también proporciona conjugado oligonucleótido-ligando para usar, o adaptables para usar, en la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para tratar el cáncer. En algunas modalidades, los conjugados oligonucleótido-ligando para usar, o adaptables para usar, se dirigen a un regulador de inmunosupresión (por ejemplo, un factor de transcripción o polipéptido inhibidor de punto de control). En algunas modalidades, los conjugados oligonucleótido-ligando para usar, o adaptables para usar, se dirigen a un regulador de inmunosupresión y reducen la cantidad o nivel del ARNm del regulador, o la proteína y/o actividad del regulador.

Como se detalla más abajo, los métodos también pueden incluir etapas tales como medir u obtener un valor de referencia para un marcador de un regulador de la inmunosupresión, y después comparar dicho valor obtenido con uno o más valores de referencia o valores obtenidos después de administrar el oligonucleótido para evaluar la eficacia del tratamiento. En algunas modalidades, la descripción proporciona conjugados oligonucleótido-ligando para reducir la inmunosupresión en un microentorno tumoral. En algunas modalidades, la reducción de la inmunosupresión se determina mediante un ensayo o técnica apropiados para evaluar una o más propiedades o características de la inmunosupresión en un tumor (por ejemplo, la presencia de células supresoras tales como las MDSC) o mediante un ensayo o técnica que evalúa moléculas que son directamente indicativas de la inmunosupresión (por ejemplo, alta expresión de Arg1). En algunas modalidades, la medida en que un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción reduce la inmunosupresión se evalúa mediante la comparación de la inmunosupresión en el TME en contacto con el conjugado oligonucleótido-ligando con un control apropiado (por ejemplo, un tumor apropiado que no entra en contacto con el oligonucleótido o que contacta con un oligonucleótido de control). En algunas modalidades, un nivel de control apropiado de la expresión de ARNm en proteína puede ser un nivel o valor predeterminado, de manera que no es necesario medir un nivel de control cada vez. El nivel o valor predeterminado puede tomar una variedad de formas. En algunas modalidades, un nivel o valor predeterminado puede ser un valor de corte único, tal como una mediana o una media.

En algunas modalidades, la administración de un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción resulta en una reducción en el ARNm diana en una célula inmunitaria

residente en un tumor. En algunas modalidades, la reducción en el ARNm diana es aproximadamente 1 % o menor, aproximadamente 5 % o menor, aproximadamente 10 % o menor, aproximadamente 15 % o menor, aproximadamente 20 % o menor, aproximadamente 25 % o menor, aproximadamente 30 % o menor, aproximadamente 35 % o menor, aproximadamente 40 % o menor, aproximadamente 45 % o menor, aproximadamente 50 % o menor, aproximadamente 55 % o menor, aproximadamente 60 % o menor, aproximadamente 70 % o menor, aproximadamente 80 % o menor, o aproximadamente 90 % o en comparación con un nivel de control apropiado de ARNm. El nivel de control apropiado puede ser un nivel de expresión de ARNm y/o traducción de proteína en una célula o población de células que no se ha puesto en contacto con un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción. En algunas modalidades, el efecto del suministro de un conjugado oligonucleótido-ligando a una célula de acuerdo con un método de la presente descripción se evalúa después de un período de tiempo finito. Por ejemplo, los niveles de ARNm pueden analizarse en una célula al menos aproximadamente 8 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 24 horas; o al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o incluso hasta 14 días después de la introducción del conjugado oligonucleótido-ligando en el tumor.

En algunas modalidades, un conjugado oligonucleótido-ligando se suministra en forma de un transgén modificado genéticamente para expresar en una célula el conjugado oligonucleótido-ligando o las hebras que comprenden el conjugado oligonucleótido-ligando (por ejemplo, sus hebras sentido y antisentido). En algunas modalidades, un conjugado oligonucleótido-ligando se suministra mediante el uso de un transgén modificado genéticamente para expresar cualquier conjugado oligonucleótido-ligando descrito en la presente descripción. Los transgenes pueden suministrarse mediante el uso de vectores virales (por ejemplo, adenovirus, retrovirus, virus vaccinia, poxvirus, virus adenoasociados o virus del herpes simple) o vectores no virales (por ejemplo, plásmidos o ARNm sintéticos). En algunas modalidades, los transgenes pueden inyectarse directamente a un sujeto.

En algunos aspectos, la descripción proporciona métodos para tratar a un sujeto que tiene, se sospecha que tiene, o está en riesgo de desarrollar un cáncer. En algunas modalidades, la descripción proporciona métodos para tratar o atenuar el inicio o la progresión del cáncer

mediante el uso de los conjugados oligonucleótido-ligando descritos en la presente descripción. En algunas modalidades de los métodos en la presente descripción, un sujeto se trata mediante la administración de una cantidad con eficacia terapéutica de uno cualquiera o más de los conjugados oligonucleótido-ligando en la presente descripción. En algunas modalidades, el sujeto es un mamífero. En algunas modalidades, el sujeto un humano.

En algunas modalidades de los métodos en la presente descripción, uno o más conjugados oligonucleótido-ligando en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende uno o más conjugados oligonucleótido-ligando, se administra a un sujeto que tiene cáncer. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando reduce un ARNm diana en un tumor (por ejemplo, en una célula inmunitaria en un microentorno tumoral). En algunas modalidades, una cantidad del ARNm diana y/o proteína se reduce en el sujeto.

En algunas modalidades de los métodos en la presente descripción, un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende el conjugado oligonucleótido-ligando, se administra a un sujeto que tiene cáncer y la expresión de un gen diana (por ejemplo, un regulador de la inmunosupresión) se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la expresión de la diana antes de la administración de uno o más conjugado oligonucleótido-ligando o composición farmacéutica. En algunas modalidades, el ARNm diana se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la expresión del ARNm diana en un sujeto (por ejemplo, un sujeto

de referencia o de control) que no recibe el conjugado oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica o que recibe un conjugado oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica o el tratamiento de control.

En algunas modalidades de los métodos en la presente descripción, un conjugado oligonucleótido-ligando o los conjugados oligonucleótido-ligando en la presente descripción o una composición farmacéutica que comprende el(los) conjugado(s) oligonucleótido-ligando, se administra a un sujeto que tiene cáncer de manera que una cantidad o nivel de ARNm diana (por ejemplo, un gen que codifica un regulador de la inmunosupresión) se reduce en las células inmunitarias residentes en el tumor del sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la cantidad o el nivel de ARNm diana antes de la administración del conjugado oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica. En algunas modalidades de los métodos en la presente descripción, un conjugado oligonucleótido-ligando o los conjugados oligonucleótido-ligando en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende el(los) conjugado(s) oligonucleótido-ligando, se administra a un sujeto que tiene cáncer, de manera que una cantidad o nivel de ARNm diana (por ejemplo, un gen que codifica un regulador de la inmunosupresión) se reduce en las células inmunitarias del TdLN del sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la cantidad o el nivel de ARNm diana antes de la administración del conjugado oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica. En algunas modalidades, una cantidad o nivel de ARNm diana se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la cantidad o el nivel de ARNm diana antes de la administración del conjugado oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica.

aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con una cantidad o nivel de ARNm diana en un sujeto (por ejemplo, un sujeto de referencia o de control) que no recibe el conjugado oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica o que recibe un conjugado oligonucleótido-ligando o conjugados oligonucleótido-ligando, composición farmacéutica o tratamiento de control.

En algunas modalidades de los métodos en la presente descripción, un conjugado oligonucleótido-ligando o los conjugados oligonucleótido-ligando en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende el(los) conjugado(s) oligonucleótido-ligando, se administra a un sujeto que tiene cáncer con un entorno de inmunosupresión, de manera que una cantidad o nivel de la proteína diana que regula la inmunosupresión se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la cantidad o el nivel de proteína que regula la inmunosupresión antes de la administración del conjugado oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica. En algunas modalidades, una cantidad o nivel de proteína que regula la inmunosupresión se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con una cantidad o nivel de proteína que regula la inmunosupresión en un sujeto (por ejemplo, un sujeto de referencia o de control) que no recibe el(los) conjugado(s) oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica o que recibe un(os) conjugado(s) oligonucleótido-ligando, o composición farmacéutica o tratamiento de

control.

En algunas modalidades de los métodos en la presente descripción, un conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende el conjugado oligonucleótido-ligando o los conjugados oligonucleótido-ligando, se administra a un sujeto que tiene cáncer con un TME supresor de manera que una cantidad o nivel de un ARNm o proteína que regula la inmunosupresión se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la cantidad o el nivel de ARNm o proteína que regula la inmunosupresión antes de la administración del conjugado oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica. En algunas modalidades, una cantidad o nivel de ARNm diana que regula la inmunosupresión se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con una cantidad o nivel de ARNm diana en un sujeto (por ejemplo, un sujeto de referencia o de control) que no recibe el conjugado oligonucleótido-ligando o la composición farmacéutica o que recibe un conjugado oligonucleótido-ligando, una composición farmacéutica o un tratamiento de control.

Debido a su alta especificidad, los conjugados oligonucleótido-ligando en la presente descripción se dirigen específicamente a ARNm de genes diana de células y tejidos enfermos. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando suministra el oligonucleótido a una célula diana. En algunas modalidades, la célula diana es una célula inmunitaria que se encuentra en un microentorno tumoral. En algunas modalidades, la célula diana es una célula inmunitaria que se encuentra en un microentorno tumoral inmunosupresor. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando suministra

el oligonucleótido a una o más poblaciones de células MDSC. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando suministra el oligonucleótido a una G-MDSC. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando suministra el oligonucleótido a una M-MDSC. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando suministra el oligonucleótido a una G-MDSC y a una M-MDSC. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando suministra el oligonucleótido a un linfocito T en un microentorno tumoral. En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando suministra el oligonucleótido a un linfocito Treg.

Como se describió en la presente descripción, el conjugado oligonucleótido-ligando para dirigirse a un ARNm que codifica un regulador de inmunosupresión es capaz de convertir un tumor frío en un tumor caliente. Los tumores calientes permiten que otros enfoques terapéuticos sean más eficaces en el tratamiento de la enfermedad. Por lo tanto, en algunas modalidades, un conjugado oligonucleótido-ligando descrito en la presente descripción se administra en combinación con un segundo agente terapéutico. En algunas modalidades, el segundo agente terapéutico se selecciona de, pero no se limita a, una quimioterapia, un tratamiento anticanceroso dirigido, un fármaco oncolítico, un agente citotóxico, un tratamiento basado en el sistema inmunitario, una citocina, un procedimiento quirúrgico, un procedimiento de radiación, un activador de una molécula coestimuladora, un inhibidor de una molécula inhibidora, una vacuna o una inmunoterapia celular, o una de sus combinaciones.

Los métodos que se describen en la presente descripción típicamente implican administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un conjugado oligonucleótido-ligando o conjugados oligonucleótido-ligando, es decir, una cantidad capaz de producir un resultado terapéutico conveniente. Una cantidad terapéuticamente aceptable puede ser una cantidad que puede tratar terapéuticamente una enfermedad o trastorno. La dosificación adecuada para cualquier sujeto dependerá de determinados factores, que incluyen la talla del sujeto, el área superficial corporal, la edad, la composición particular que se va a administrar, el(los) ingrediente(s) activo(s) en la composición, el tiempo y la vía de administración, el estado general de salud, y otros fármacos que se administran simultáneamente.

En algunas modalidades, a un sujeto se le administra una cualquiera de las composiciones de la presente descripción ya sea por vía enteral (por ejemplo, por vía oral, por sonda de

alimentación gástrica, por sonda de alimentación duodenal, mediante gastrostomía o por vía rectal), por vía parenteral (por ejemplo, inyección subcutánea, inyección o infusión intravenosa, inyección o infusión intraarterial, infusión intraósea, inyección intramuscular, inyección intracerebral, inyección intracerebroventricular, intratecal), por vía tópica (por ejemplo, epicutánea, inhalatoria, mediante gotas para los ojos, o a través de una membrana mucosa), o por inyección directa en un órgano diana (por ejemplo, el hígado de un sujeto). En algunas modalidades, un conjugado oligonucleótido-ligando o una composición farmacéutica de este se administra por vía intravenosa o subcutánea.

Como un conjunto de ejemplos no limitante, en algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando de la presente descripción se administraría típicamente trimestralmente (una vez cada tres meses), bimensualmente (una vez cada dos meses), mensual o semanalmente. Por ejemplo, el conjugado oligonucleótido-ligando puede administrarse semanalmente, o a intervalos de dos o tres semanas. Alternativamente, los conjugados oligonucleótido-ligando pueden administrarse diariamente. En algunas modalidades, a un sujeto se le administran una o más dosis de carga del conjugado oligonucleótido-ligando seguido de una o más dosis de mantenimiento del conjugado oligonucleótido-ligando.

En algunas modalidades, el conjugado oligonucleótido-ligando en la presente descripción se administra solo o en combinación. En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción se administran en combinación simultáneamente, secuencialmente (en cualquier orden) o intermitentemente. Por ejemplo, dos conjugados oligonucleótido-ligando pueden coadministrarse simultáneamente. Alternativamente, un conjugado oligonucleótido-ligando puede administrarse y seguido de cualquier periodo de tiempo después (por ejemplo, una hora, un día, una semana o un mes) por la administración de un segundo conjugado oligonucleótido-ligando.

En algunas modalidades, el sujeto a tratar es un sujeto humano o primate no humano u otro sujeto mamífero. Otros sujetos ilustrativos incluyen animales domesticados tales como perros y gatos; ganado tal como caballos, vacas, cerdos, ovejas, cabras y pollos; y animales tales como ratones, ratas, cobayos y hámsteres.

Tipos de oligonucleótidos

Una variedad de tipos y/o estructuras de oligonucleótidos son útiles para dirigirse a una

secuencia diana en los métodos en la presente descripción que incluyen, pero no se limitan a, oligonucleótidos de ARNi, oligonucleótidos antisentido, miARN, etcétera. Cualquiera de los tipos de oligonucleótidos que se describen en la presente descripción o en cualquier otro lugar se contempla para usar como marco para incorporar una secuencia de direccionamiento en la presente descripción.

En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción inhiben la expresión de una secuencia diana mediante el acoplamiento con vías de interferencia de ARN (ARNi) aguas arriba y aguas abajo de la participación de Dicer. Por ejemplo, los oligonucleótidos de ARNi se han desarrollado con cada hebra con tamaños de aproximadamente 19-25 nucleótidos con al menos un saliente en 3' de 1 a 5 nucleótidos (ver, por ejemplo, patente de EE. UU. núm. 8,372,968). También se han desarrollado oligonucleótidos más largos que Dicer procesa para generar productos de ARNi activos (ver, por ejemplo, patente de Estados Unidos núm. 8,883,996). El trabajo adicional produjo ARNbc extendidos donde al menos un extremo de al menos una hebra se extiende más allá de una región de direccionamiento híbrida, que incluye estructuras donde una de las hebras incluye una estructura de tetralazo termodinámicamente estabilizadora (ver, por ejemplo, patentes de EE. UU. núm. 8,513,207 y 8,927,705, así como también la publicación de solicitud de patente internacional núm. WO 2010/033225). Tales estructuras pueden incluir extensiones mc (en uno o ambos lados de la molécula) así como también extensiones bc.

En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción interactúan con la vía de ARNi aguas abajo de la participación de Dicer (por ejemplo, escisión de Dicer). En algunas modalidades, los oligonucleótidos que se describen en la presente descripción son sustratos Dicer. En algunas modalidades, tras el procesamiento por Dicer endógeno, se producen ácidos nucleicos bicatenarios de 19-23 nucleótidos de longitud capaces de reducir la expresión del ARNm diana. En algunas modalidades, el oligonucleótido tiene un saliente (por ejemplo, de 1, 2 o 3 nucleótidos de longitud) en el extremo 3' de la hebra sentido. En algunas modalidades, el oligonucleótido (por ejemplo, ARNip) comprende una hebra guía de 21 nucleótidos que es antisentido para un ARN diana y una hebra pasajera complementaria, en la que ambas hebras hibridan para formar un híbrido de 19 pb y salientes de 2 nucleótidos en uno o ambos extremos 3'. También existe disponibilidad de diseños de oligonucleótidos más largos, que incluyen oligonucleótidos que tienen una hebra

guía de 23 nucleótidos y una hebra pasajera de 21 nucleótidos, donde existe un extremo romo en el lado derecho de la molécula (extremo 3' de la hebra pasajera/extremo 5' de la hebra guía) y un saliente 3' de dos nucleótidos de la hebra guía en el lado izquierdo de la molécula (extremo 5' de la hebra pasajera/extremo 3' de la hebra guía). En tales moléculas, existe una región híbrida de 21 pb. Ver, por ejemplo, las patentes de EE. UU. núms. 9,012,138; 9,012,621 y 9,193,753.

En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción comprenden hebras sentido y antisentido que están ambas en el intervalo de aproximadamente 17 a 26 (por ejemplo, 17 a 26, 20 a 25 o 21-23) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción comprenden hebras sentido y antisentido que están ambas en el intervalo de aproximadamente 17 a 36 (por ejemplo, 17 a 36, 20 a 25 o 21-23) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, los oligonucleótidos descritos en la presente descripción comprenden una hebra antisentido de 19-30 nucleótidos de longitud y una hebra sentido de 19-50 nucleótidos de longitud, en donde las hebras antisentido y sentido son hebras separadas que forman una región híbrida asimétrica que tiene un saliente de 1-4 nucleótidos en el extremo terminal 3' de la hebra antisentido. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y antisentido que están ambas en el intervalo de aproximadamente 19-22 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las hebras sentido y antisentido tienen la misma longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende hebras sentido y antisentido, de manera que hay un saliente 3' en la hebra sentido o en la hebra antisentido, o tanto en la hebra sentido como en la antisentido. En algunas modalidades, para los oligonucleótidos que tienen hebras sentido y antisentido ambas con longitudes en el intervalo de aproximadamente 21-23 nucleótidos, un saliente 3' en las hebras sentido, antisentido o tanto sentido como antisentido es de 1 o 2 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido tiene una hebra guía de 22 nucleótidos y una hebra pasajera de 20 nucleótidos, donde hay un extremo romo en el lado derecho de la molécula (extremo 3' de la hebra pasajera/extremo 5' de la hebra guía) y un saliente 3' de 2 nucleótidos de la hebra guía en el lado izquierdo de la molécula (extremo 5' de la hebra pasajera/extremo 3' de la hebra guía). En tales moléculas, existe una región híbrida de 20 pb.

Otros diseños de oligonucleótidos para usar con las composiciones y métodos en la presente descripción incluyen: ARNip de 16-mer (ver, por ejemplo, NUCLEIC ACIDS IN CHEMISTRY Y BIOLOGY. Blackburn (ed.), Royal Society of Chemistry, 2006), ARNhc (por ejemplo, que tienen tallos de 19 pb o más cortos; (ver, por ejemplo, Moore y otros, (2010) METHODS MOL. BIOL. 629:141-58), ARNip romos (por ejemplo, de 19 bps de longitud; ver, por ejemplo, Kraynack y Baker (2006) RNA 12:163-76), ARNip asimétricos (aiARN; ver, por ejemplo, Sun y otros, (2008) NAT. BIOTECHNOL. 26:1379-82), ARNip híbrido más corto asimétrico (ver, por ejemplo, Chang y otros, (2009) MOL. THER. 17:725-32), ARNip de horquilla (ver, por ejemplo, Hohjoh (2004) FEBS LETT. 557:193-98), ARNip mc (Elsner (2012) NAT. BIOTECHNOL. 30:1063), ARNip circulares en forma de mancuerna (ver, por ejemplo, Abe y otros, (2007) J. AM. CHEM. SOC. 129:15108-09), y ARN de interferencia pequeño segmentado internamente (ARNip; ver, por ejemplo, Bramsen y otros, (2007) NUCLEIC ACIDS RES. 35:5886-97). Otros ejemplos no limitantes de estructuras oligonucleotídicas que pueden usarse en algunas modalidades para reducir o inhibir la expresión de STAT3 son microARN (miARN), ARN de horquilla corto (ARNhc) y ARNip corto (ver, por ejemplo, Hamilton y otros, (2002) EMBO J. 21:4671-79; ver también, la publicación de solicitud de patente de EE. UU. núm. 2009/0099115).

Aun así, en algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir o inhibir la expresión de una secuencia diana en la presente descripción es mc. Tales estructuras pueden incluir, pero no se limitan a, moléculas de ARNi mc. Esfuerzos recientes han demostrado la actividad de las moléculas de ARNi mc (ver, por ejemplo, Matsui y otros (2016) MOL. THER. 24:946-55). Sin embargo, en algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción son oligonucleótidos antisentido (ASO). Un oligonucleótido antisentido es un oligonucleótido mc que tiene una secuencia de nucleobases que, cuando se escribe en la dirección 5' a 3', comprende el complemento inverso de un segmento diana de un ácido nucleico particular y se modifica adecuadamente (por ejemplo, como un gápmo) para inducir la escisión mediada por ARNasa H de su ARN diana en las células o (por ejemplo, como un oligómero mixto) para inhibir la traducción del ARNm diana en las células. Los ASO para usar en la presente descripción pueden modificarse de cualquier manera adecuada conocida en la técnica que incluye, por ejemplo, como se muestra en la patente de EE. UU. núm. 9,567,587 (que incluye, por ejemplo, longitud, porciones de azúcar de la

base nitrogenada (pirimidina, purina) y alteraciones de la porción heterocíclica de la nucleobase). Además, los ASO se han usado durante décadas para reducir la expresión de genes diana específicos (ver, por ejemplo, Bennett y otros (2017) *ANNU. REV. PHARMACOL.* 57:81-105).

En algunas modalidades, el oligonucleótido antisentido comparte una región de complementariedad con un ARNm diana. En algunas modalidades, el oligonucleótido antisentido es de 15-50 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido antisentido es de 15-25 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido antisentido es de 22 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido antisentido es de al menos 15 nucleótidos contiguos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido antisentido es de al menos 19 nucleótidos contiguos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido antisentido es de al menos 20 nucleótidos contiguos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido antisentido difiere en 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia diana.

Oligonucleótidos bicatenarios

En algunas modalidades, la descripción proporciona oligonucleótidos de ARNbc bicatenarios para dirigirse e inhibir la expresión de una secuencia diana (por ejemplo, mediante la vía del ARNi) que comprende una hebra sentido (también denominada en la presente descripción hebra pasajera) y una hebra antisentido (también denominada en la presente descripción hebra guía). En algunas modalidades, la hebra sentido y la hebra antisentido son hebras separadas y no están unidas covalentemente. En algunas modalidades, la hebra sentido y la hebra antisentido están unidas covalentemente. En algunas modalidades, la hebra sentido y la hebra antisentido forman una región híbrida, en donde la hebra sentido y la hebra antisentido, o una porción de estas, se unen entre sí de manera complementaria (por ejemplo, por apareamiento de bases Watson-Crick).

En algunas modalidades, la hebra sentido tiene una primera región (R1) y una segunda región (R2), en donde R2 comprende una primera subregión (S1), un lazo (L), tal como un tetralazo (tetraL) o trilazo (triL) y una segunda subregión (S2), en donde L, tetraL o triL se ubican entre S1 y S2, y en donde S1 y S2 forman un segundo híbrido (D2). D2 puede tener varias longitudes. En algunas modalidades, D2 es de aproximadamente 1-6 pb de longitud. En algunas modalidades, D2 es de 2-6, 3-6, 4-6, 5-6, 1-5, 2-5, 3-5 o 4-5 pb de longitud. En

algunas modalidades, D2 es de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 pb de longitud. En algunas modalidades, D2 es de 6 pb de longitud.

En algunas modalidades, R1 de la hebra sentido y la hebra antisentido forman un primer híbrido (D1). En algunas modalidades, D1 es de al menos aproximadamente 15 (por ejemplo, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20 o al menos 21) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, D1 está en el intervalo de aproximadamente 12 a 30 nucleótidos de longitud (por ejemplo, una longitud de 12 a 30, de 12 a 27, de 15 a 22, de 18 a 22, de 18 a 25, de 18 a 27, de 18 a 30 o de 21 a 30 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, D1 es de al menos 12 nucleótidos de longitud (por ejemplo, al menos 12, al menos 15, al menos 20, al menos 25 o al menos 30 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, D1 es de 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, D1 es de 20 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, D1 que comprende la hebra sentido y la hebra antisentido no abarca la longitud total de la hebra sentido y/o la hebra antisentido. En algunas modalidades, D1 que comprende la hebra sentido y la hebra antisentido abarca toda la longitud de la hebra sentido o la hebra antisentido o ambas. En determinadas modalidades, D1 que comprende la hebra sentido y la hebra antisentido abarca toda la longitud tanto de la hebra sentido como de la hebra antisentido.

Se apreciará que, en algunas modalidades, se puede hacer referencia a las secuencias presentadas en el Listado de secuencias al describir la estructura de un oligonucleótido u otro ácido nucleico. En tales modalidades, el oligonucleótido real u otro ácido nucleico puede tener uno o más nucleótidos alternativos (por ejemplo, una contraparte de ARN de un nucleótido de ADN o una contraparte de ADN de un nucleótido de ARN) y/o uno o más nucleótidos modificados y/o uno o más enlaces internucleotídicos modificados y/o una o más modificaciones cuando se compara con la secuencia especificada conservando propiedades complementarias esencialmente iguales o similares a las de la secuencia especificada.

En algunas modalidades, un ARN bicatenario (ARNbc) en la presente descripción comprende una hebra sentido de 25 nucleótidos y una hebra antisentido de 27 nucleótidos que cuando actúa sobre una enzima Dicer resulta en una hebra antisentido que se incorpora al RISC maduro. En algunas modalidades, la hebra sentido del ARNbc tiene más de 27

nucleótidos (por ejemplo, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos). En algunas modalidades, la hebra sentido del ARNbc tiene más de 27 nucleótidos (por ejemplo, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, o 50 nucleótidos). En algunas modalidades, la hebra sentido del ARNbc tiene más de 25 nucleótidos (por ejemplo, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos).

En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción tienen un extremo 5' que es termodinámicamente menos estable cuando se compara con el otro extremo 5'. En algunas modalidades, se proporciona un oligonucleótido asimétrico que incluye un extremo romo en el extremo 3' de una hebra sentido y un saliente 3' en el extremo 3' de una hebra antisentido. En algunas modalidades, el saliente 3' en la hebra antisentido es de aproximadamente 1-8 nucleótidos de longitud (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleótidos de longitud). Típicamente, un oligonucleótido para ARNi tiene un saliente de dos nucleótidos en el extremo 3' de la hebra antisentido (guía). Sin embargo, son posibles otros salientes. En algunas modalidades, un saliente es un saliente 3' que comprende una longitud de entre 1 y 6 nucleótidos, opcionalmente de 1 a 5, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2, de 2 a 6, de 2 a 5, de 2 a 4, de 2 a 3, de 3 a 6, de 3 a 5, de 3 a 4, de 4 a 6, de 4 a 5, de 5 a 6 nucleótidos, o 1, 2, 3, 4, 5 o 6 nucleótidos. Sin embargo, en algunas modalidades, el saliente es un saliente 5' que comprende una longitud de entre 1 y 6 nucleótidos, opcionalmente de 1 a 5, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2, de 2 a 6, de 2 a 5, de 2 a 4, de 2 a 3, de 3 a 6, de 3 a 5, de 3 a 4, de 4 a 6, de 4 a 5, de 5 a 6 nucleótidos, o 1, 2, 3, 4, 5 o 6 nucleótidos.

En algunas modalidades, se modifican dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de una hebra antisentido. En algunas modalidades, los dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de la hebra antisentido son complementarios con el ARNm diana. En algunas modalidades, los dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de la hebra antisentido no son complementarios con el ARNm diana. En algunas modalidades, los dos nucleótidos terminales en el extremo 3' de la hebra antisentido de un oligonucleótido en la presente descripción comprenden un GG no apareado. En algunas modalidades, los dos (2) nucleótidos terminales en el extremo 3' de una hebra antisentido de un oligonucleótido en la presente descripción no son complementarios al ARNm diana. En algunas modalidades, dos nucleótidos terminales en cada extremo 3' de un oligonucleótido en la estructura del

tetralazo con mella son GG. En algunas modalidades, uno o ambos de los dos (2) nucleótidos GG terminales en cada extremo 3' de un oligonucleótido en la presente descripción no es complementario con el ARNm diana. Típicamente, uno o ambos de los dos nucleótidos GG terminales en cada extremo 3' de un oligonucleótido no es complementario con la diana.

En algunas modalidades, hay uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) errores de apareamiento entre una hebra sentido y antisentido. Si existe más de un error de apareamiento entre una hebra sentido y antisentido, pueden ubicarse consecutivamente (por ejemplo, 2, 3 o más seguidos), o intercalados en toda la región de complementariedad. En algunas modalidades, el extremo 3' de la hebra sentido contiene uno o más errores de apareamiento. En algunas modalidades, se incorporan dos errores de apareamiento en el extremo 3' de la hebra sentido. En algunas modalidades, los errores de apareamiento de base, o la desestabilización de segmentos en el extremo 3' de la hebra sentido del oligonucleótido mejoraron la potencia de los híbridos sintéticos en ARNi, posiblemente porque facilitaron el procesamiento por Dicer.

a. Hebras antisentido

En algunas modalidades, un ARNbc comprende una hebra antisentido de hasta aproximadamente 40 nucleótidos de longitud (por ejemplo, hasta 40, hasta 35, hasta 30, hasta 27, hasta 25, hasta 21, hasta 19, hasta 17 o hasta 12 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) comprende una hebra antisentido de hasta aproximadamente 50 nucleótidos de longitud (por ejemplo, hasta 50, hasta 40, hasta 35, hasta 30, hasta 27, hasta 25, hasta 21, hasta 19, hasta 17 o hasta 12 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, un oligonucleótido puede tener una hebra antisentido de al menos aproximadamente 12 nucleótidos de longitud (por ejemplo, al menos 12, al menos 15, al menos 19, al menos 21, al menos 22, al menos 25, al menos 27, al menos 30, al menos 35 o al menos 38 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, un oligonucleótido puede tener una hebra antisentido en un intervalo de aproximadamente 12 a aproximadamente 40 (por ejemplo, 12 a 40, 12 a 36, 12 a 32, 12 a 28, 15 a 40, 15 a 36, 15 a 32, 15 a 28, 17 a 22, 17 a 25, 19 a 27, 19 a 30, 20 a 40, 22 a 40, 25 a 40 o 32 a 40) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una hebra antisentido de 15 a 30

nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido puede tener una cadena antisentido de 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, una hebra antisentido de un oligonucleótido puede denominarse como una “hebra guía”. Por ejemplo, si una hebra antisentido puede acoplar con el complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC) y se une a una proteína *Argonauta* tal como Ago2, o se acopla o se une a uno o más factores similares, y dirige el silenciamiento de un gen diana, puede denominarse como una hebra guía. En algunas modalidades, una hebra sentido complementaria a una hebra guía puede denominarse como una “hebra pasajera”.

b. Hebras sentido

En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una hebra sentido (o hebra pasajera) de hasta aproximadamente 40 nucleótidos de longitud (por ejemplo, hasta 40, hasta 36, hasta 30, hasta 27, hasta 25, hasta 21, hasta 19, hasta 17 o hasta 12 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, un oligonucleótido puede tener una hebra sentido de al menos aproximadamente 12 nucleótidos de longitud (por ejemplo, al menos 12, al menos 15, al menos 19, al menos 21, al menos 25, al menos 27, al menos 30, al menos 36 o al menos 38 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, un oligonucleótido puede tener una hebra sentido en un intervalo de aproximadamente 12 a aproximadamente 40 (por ejemplo, 12 a 40, 12 a 36, 12 a 32, 12 a 28, 15 a 40, 15 a 36, 15 a 32, 15 a 28, 17 a 21, 17 a 25, 19 a 27, 19 a 30, 20 a 40, 22 a 40, 25 a 40 o 32 a 40) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido de 15 a 50 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido de 18 a 36 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido puede tener una hebra sentido de 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una hebra sentido de 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, o 50 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido de 36 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) comprende una hebra sentido que comprende una estructura de tallo y lazo en el extremo 3' de la hebra sentido. En algunas modalidades, la estructura de tallo y lazo está formada por apareamiento de bases intracatenario. En algunas modalidades, una hebra sentido comprende una estructura de tallo y lazo en su extremo 5'. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 2 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 3 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 4 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 5 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 6 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 7 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 8 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 9 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 10 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 11 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 12 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 13 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el tallo de la estructura de tallo y lazo comprende un híbrido de 14 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, una estructura de tallo y lazo proporciona la protección del oligonucleótido contra la degradación (por ejemplo, degradación enzimática), facilita o mejora el direccionamiento y/o el suministro a una célula, tejido u órgano diana (por ejemplo, el hígado), o ambos. Por ejemplo, en algunas modalidades, el lazo de una estructura de tallo y lazo se compone de nucleótidos que comprenden una o más modificaciones que facilitan, mejoran o aumentan el direccionamiento a una diana, la inhibición de la expresión génica de la diana y/o el suministro, la captación y/o la

penetración en una célula, tejido u órgano diana (por ejemplo, el hígado), o una de sus combinaciones. En algunas modalidades, la propia estructura de tallo y lazo o la(s) modificación(ones) a la estructura de tallo y lazo no afecta o no afecta sustancialmente la actividad de inhibición de la expresión génica inherente del oligonucleótido, pero facilita, mejora o aumenta la estabilidad (por ejemplo, proporciona protección contra la degradación) y/o el suministro, la captación y/o la penetración del oligonucleótido a una célula, tejido u órgano diana. En determinadas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido que comprende (por ejemplo, en su extremo 3') una estructura de tallo y lazo que se expone como: S1-L-S2, en el que S1 es complementaria a S2, y en el que L forma un lazo monocatenario de nucleótidos unidos entre S1 y S2 de hasta aproximadamente 10 nucleótidos de longitud (por ejemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, el lazo (L) tiene 3 nucleótidos de longitud (denominados en la presente descripción "trilazo". En algunas modalidades, el lazo (L) tiene 4 nucleótidos de longitud (denominado en la presente descripción "tetralazo"). En algunas modalidades, el lazo (L) tiene 5 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el lazo (L) tiene 6 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el lazo (L) tiene 7 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el lazo (L) tiene 8 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el lazo (L) tiene 9 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el lazo (L) tiene 10 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, el tetralazo comprende la secuencia 5'-GAAA-3'. En algunas modalidades, la estructura de tallo y lazo la secuencia 5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3' (SEQ ID NO: 86).

En algunas modalidades, una hebra sentido comprende una estructura de tallo y lazo en su extremo 3'. En algunas modalidades, una hebra sentido comprende una estructura de tallo y lazo en su extremo 5'. En algunas modalidades, un tallo es un híbrido de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 pb de longitud. En algunas modalidades, una estructura de tallo y lazo proporciona la protección de la molécula contra la degradación (por ejemplo, degradación enzimática) y facilita las características de direccionamiento para el suministro a una célula diana. Por ejemplo, en algunas modalidades, un lazo proporciona nucleótidos añadidos en los que puede realizarse la modificación sin afectar sustancialmente la actividad de inhibición de la expresión génica de un oligonucleótido. En determinadas modalidades, un

oligonucleótido en la presente descripción en el cual la hebra sentido que comprende (por ejemplo, en su extremo 3') una estructura de tallo y lazo que se expone como: S1-L-S2, en el que S1 es complementaria a S2, y en el que L forma un lazo entre S1 y S2 de hasta aproximadamente 10 nucleótidos de longitud (por ejemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos de longitud). La Figura 1 representa ejemplos no limitantes de tal oligonucleótido.

En algunas modalidades, un lazo (L) de una estructura de tallo y lazo que tiene la estructura S1-L-S2 como se describió en la presente descripción es un trilazo. En algunas modalidades, el trilazo comprende ribonucleótidos, desoxirribonucleótidos, nucleótidos modificados, ligandos (por ejemplo, ligandos de suministro) y combinaciones de estos.

En algunas modalidades, un lazo de una estructura de tallo y lazo es un tetralazo (por ejemplo, dentro de una estructura de tetralazo con mella). Un tetralazo puede contener ribonucleótidos, desoxirribonucleótidos, nucleótidos modificados y sus combinaciones. Típicamente, un tetralazo tiene de 4 a 5 nucleótidos.

Longitud de los híbridos

En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de al menos 12 (por ejemplo, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20 o al menos 21) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido está en el intervalo de 12-30 nucleótidos de longitud (por ejemplo, 12 a 30, 12 a 27, 12 a 22, 15 a 25, 18 a 30, 18 a 22, 18 a 25, 18 a 27, 18 a 30, 19 a 30 o 21 a 30 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 12 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 13 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 14 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 15 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 16 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 17 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado

entre una hebra sentido y antisentido es de 18 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 19 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 20 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 22 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 23 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 24 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 25 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 27 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 28 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 29 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido es de 30 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un híbrido formado entre una hebra sentido y antisentido no abarca toda la longitud de la hebra sentido y/o la hebra antisentido. En algunas modalidades, un híbrido entre una hebra sentido y antisentido abarca toda la longitud de las hebras sentido o antisentido. En algunas modalidades, un híbrido entre una hebra sentido y antisentido abarca toda la longitud tanto de la hebra sentido como de la hebra antisentido.

Extremos terminales de los oligonucleótidos

En algunas modalidades, un oligonucleótido descrito en la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde los extremos terminales de una o ambas hebras comprenden un extremo romo. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende hebras sentido y antisentido que son hebras separadas que forman una región híbrida asimétrica que tiene un saliente en el extremo terminal 3' de la hebra antisentido. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde los extremos terminales de una o ambas

hebras comprenden un saliente que comprende uno o más nucleótidos. En algunas modalidades, el uno o más nucleótidos que comprenden el saliente son nucleótidos no apareados. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde los extremos terminales 3' de la hebra sentido y los extremos terminales 5' de la hebra antisentido comprenden un extremo romo. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde los extremos terminales 5' de la hebra sentido y los extremos terminales 3' de la hebra antisentido comprenden un extremo romo.

En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde el extremo terminal 3' de una o ambas hebras comprende un saliente 3' que comprende uno o más nucleótidos. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde la hebra sentido comprende un saliente 3' que comprende uno o más nucleótidos. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde la hebra antisentido comprende un saliente 3' que comprende uno o más nucleótidos. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde tanto la hebra sentido como la hebra antisentido comprenden un saliente 3' que comprende uno o más nucleótidos.

En algunas modalidades, el saliente 3' es de aproximadamente uno (1) a veinte (20) nucleótidos de longitud (por ejemplo, aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o aproximadamente 20 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, el saliente 3' es de aproximadamente uno (1) a diecinueve (19), uno (1) a dieciocho (18), uno (1) a diecisiete (17), uno (1) a dieciséis (16), uno (1) a quince (15), uno (1) a catorce (14), uno (1) a trece (13), uno (1) a doce (12), uno (1) a once (11), uno (1) a diez (10), uno (1) a nueve (9), uno (1) a ocho (8), uno (1) a siete (7), uno (1) a seis (6), uno (1) a cinco (5), uno (1) a cuatro (4), uno (1) a tres (3), o aproximadamente uno (1) a dos (2) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de (1) nucleótido de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de dos (2) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de tres (3) nucleótidos de longitud. En algunas

modalidades, el saliente 3' es de cuatro (4) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de cinco (5) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de seis (6) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de siete (7) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de ocho (8) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de nueve (9) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de diez (10) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de once (11) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de doce (12) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de trece (13) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de catorce (14) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de quince (15) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de dieciséis (16) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de diecisiete (17) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de dieciocho (18) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de diecinueve (19) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 3' es de veinte (20) nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde el extremo terminal 5' de una o ambas hebras comprende un saliente 5' que comprende uno o más nucleótidos. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde la hebra sentido comprende un saliente 5' que comprende uno o más nucleótidos. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde la hebra antisentido comprende un saliente 5' que comprende uno o más nucleótidos. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde tanto la hebra sentido como la hebra antisentido comprenden un saliente 5' que comprende uno o más nucleótidos.

En algunas modalidades, el saliente 5' es de aproximadamente uno (1) a veinte (20) nucleótidos de longitud (por ejemplo, aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o aproximadamente 20 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, el saliente 5' es de aproximadamente uno (1) a diecinueve (19), uno (1) a

dieciocho (18), uno (1) a diecisiete (17), uno (1) a dieciséis (16), uno (1) a quince (15), uno (1) a catorce (14), uno (1) a trece (13), uno (1) a doce (12), uno (1) a once (11), uno (1) a diez (10), uno (1) a nueve (9), uno (1) a ocho (8), uno (1) a siete (7), uno (1) a seis (6), uno (1) a cinco (5), uno (1) a cuatro (4), uno (1) a tres (3), o aproximadamente uno (1) a dos (2) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de (1) nucleótido de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de dos (2) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de tres (3) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de cuatro (4) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de cinco (5) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de seis (6) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de siete (7) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de ocho (8) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de nueve (9) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de diez (10) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de once (11) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de doce (12) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de trece (13) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de catorce (14) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de quince (15) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de dieciséis (16) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de diecisiete (17) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de dieciocho (18) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de diecinueve (19) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el saliente 5' es de veinte (20) nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, se modifican uno o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más) nucleótidos que comprenden el extremo terminal 3' o el extremo terminal 5' de una hebra sentido y/o antisentido. Por ejemplo, en algunas modalidades, se modifican uno o dos nucleótidos terminales del extremo terminal 3' de la hebra antisentido. En algunas modalidades, se modifica el último nucleótido en el extremo terminal 3' de una hebra antisentido, de manera que, comprende la modificación 2', o comprende, un 2'-O-metoxietilo. En algunas modalidades, el último o los dos últimos nucleótidos terminales en el extremo terminal 3' de una hebra antisentido son complementarios con la diana. En

algunas modalidades, el último o los dos últimos nucleótidos en el extremo terminal 3' de la hebra antisentido no son complementarios con la diana.

En algunas modalidades, un oligonucleótido que se describe en la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en donde el extremo terminal 3' de la hebra sentido comprende una estructura de tallo y lazo que se describe en la presente descripción y el extremo terminal 3' de la hebra antisentido comprende un saliente 3' que se describe en la presente descripción. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que forman una estructura de tetralazo con mella que se describe en la presente descripción, en donde el extremo terminal 3' de la hebra sentido comprende una estructura de tallo y lazo, en donde el lazo es un tetralazo que se describe en la presente descripción, y en donde el extremo terminal 3' de la hebra antisentido comprende un saliente 3' que se describe en la presente descripción. En algunas modalidades, el saliente 3' es de dos (2) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, los dos (2) nucleótidos que comprenden el saliente 3' comprenden nucleobases de guanina (G). Típicamente, uno o ambos nucleótidos que comprenden el saliente 3' de la hebra antisentido no son complementarios con el ARNm diana.

Modificaciones de los oligonucleótidos

a. Modificaciones del azúcar

En algunas modalidades, un azúcar modificado (también denominado en la presente descripción un análogo de azúcar) incluye una porción de desoxirribosa o ribosa modificada en el que, por ejemplo, se producen una o más modificaciones en la posición del carbono 2', 3', 4' y/o 5' del azúcar. En algunas modalidades, un azúcar modificado también puede incluir estructuras de carbono alternativas no naturales, tales como las presentes en los ácidos nucleicos bloqueados ("LNA"; ver, por ejemplo, Koshkin y otros, (1998) TETRAHEDON 54:3607-3630), ácidos nucleicos desbloqueados ("UNA"; ver, por ejemplo, Snead y otros, (2013) MOL. THER-NUCL. ACIDS 2:e103) y ácidos nucleicos puenteados ("BNA"; ver, por ejemplo, Imanishi and Obika (2002) CHEM COMMUN. (CAMB) 21:1653-1659).

En algunas modalidades, una modificación nucleotídica en un azúcar comprende una modificación en 2'. En algunas modalidades, una modificación en 2' puede ser 2'-O-

propargilo, 2'-O-propilamina, 2'-amino, 2'-etilo, 2'-flúor (2'-F), 2'-aminoetilo (EA), 2'-O-metilo (2'-OMe), 2'-O-metoxietilo (2'-MOE), 2'-O-[2-(metilamino)-2-oxoetilo] (2'-O-NMA) o ácido 2'-desoxi-2'-fluoro-β-d-arabinonucleico (2'-FANA). En algunas modalidades, la modificación es 2'-F, 2'-OMe o 2'-MOE. En algunas modalidades, una modificación en un azúcar comprende una modificación del anillo de azúcar, que puede comprender la modificación de uno o más carbonos del anillo de azúcar. Por ejemplo, una modificación de un azúcar de un nucleótido puede comprender un oxígeno 2' de un azúcar enlazado a un carbono 1' o carbono 4' del azúcar, o un oxígeno 2' enlazado a un carbono 1' o carbono 4' mediante un puente etileno o metileno. En algunas modalidades, un nucleótido modificado tiene un azúcar acíclico que carece de un enlace de carbono 2' a carbono 3'. En algunas modalidades, un nucleótido modificado tiene un grupo tiol, por ejemplo, en la posición 4' del azúcar.

En algunas modalidades, un oligonucleótido descrito en la presente descripción comprende al menos aproximadamente 1 nucleótido modificado (por ejemplo, al menos 1, al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40, al menos 45, al menos 50, al menos 55, al menos 60, o más). En algunas modalidades, la hebra sentido del oligonucleótido comprende al menos aproximadamente 1 nucleótido modificado (por ejemplo, al menos 1, al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35 o más). En algunas modalidades, la hebra antisentido del oligonucleótido comprende al menos aproximadamente 1 nucleótido modificado (por ejemplo, al menos 1, al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 20 o más).

En algunas modalidades, se modifican todos los nucleótidos de la hebra sentido del oligonucleótido. En algunas modalidades, se modifican todos los nucleótidos de la hebra antisentido del oligonucleótido. En algunas modalidades, todos los nucleótidos del oligonucleótido (es decir, tanto la hebra sentido como la hebra antisentido). En algunas modalidades, el nucleótido modificado comprende una modificación en 2' (por ejemplo, un 2'-F o 2'-OMe, 2'-MOE y ácido 2'-desoxi-2'-fluoro-β-d-arabinonucleico). En algunas modalidades, el nucleótido modificado comprende una modificación en 2' (por ejemplo, una 2'-F o 2'-OMe)..

En algunas modalidades, la descripción proporciona oligonucleótidos que tienen diferentes

patrones de modificación. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene un patrón de modificación como se expone en los Ejemplos y en el Listado de secuencias y una hebra antisentido que tiene un patrón de modificación como se expone en los Ejemplos y en el Listado de secuencias.

En algunas modalidades, un oligonucleótido que se describe en la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) comprende una hebra antisentido que tiene nucleótidos que están modificados con 2'-F. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una hebra antisentido que comprende nucleótidos que están modificados con 2'-F y 2'-OMe. En algunas modalidades, un oligonucleótido que se describe en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene nucleótidos que están modificados con 2'-F. En algunas modalidades, un oligonucleótido descrito en la presente descripción comprende una hebra sentido que comprende nucleótidos que están modificados con 2'-F y 2'-OMe.

En algunas modalidades, un oligonucleótido descrito en la presente descripción comprende una hebra sentido con aproximadamente 10-15 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 % o 15 % de los nucleótidos de la hebra sentido que comprende una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades, aproximadamente el 11 % de los nucleótidos de la hebra sentido comprenden una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades, un oligonucleótido descrito en la presente descripción comprende una hebra antisentido con aproximadamente 25-35 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 31 %, 32 %, 33 %, 34 % o 35 % de los nucleótidos de la hebra antisentido que comprenden una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades, aproximadamente el 32 % de los nucleótidos de la hebra antisentido comprenden una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades, el oligonucleótido tiene aproximadamente 15-25 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 %, 20 %, 21 %, 22 %, 23 %, 24 % o 25 % de sus nucleótidos que comprenden una modificación 2'-flúor. En algunas modalidades, aproximadamente el 19 % de los nucleótidos en el oligonucleótido ARNibc comprenden una modificación 2'-flúor.

En algunas modalidades, los oligonucleótidos modificados comprenden una secuencia de la hebra sentido que tiene un patrón de modificación como se expone en la Figura 1 o en el Ejemplo 12 y una hebra antisentido que tiene un patrón de modificación como se expone en la Figura 1 o en el Ejemplo 12. En algunas modalidades, para estos oligonucleótidos, una o

más de las posiciones 8, 9, 10 u 11 de la hebra sentido se modifica con un grupo 2'-F. En algunas modalidades, para estos oligonucleótido, la porción de azúcar en cada uno de los nucleótidos en las posiciones 1-7 y 12-20 en la hebra sentido se modifica con un 2'-OMe.

En algunas modalidades, la hebra antisentido tiene 3 nucleótidos que se modifican en la posición 2' de la porción de azúcar con un 2'-F. En algunas modalidades, la porción de azúcar en las posiciones 2, 5 y 14 y opcionalmente hasta 3 de los nucleótidos en las posiciones 1, 3, 7 y 10 de la hebra antisentido se modifican con un 2'-F. En algunas modalidades, la porción de azúcar en las posiciones 2, 5 y 14 y opcionalmente hasta 3 de los nucleótidos en las posiciones 3, 4, 7 y 10 de la hebra antisentido se modifican con un 2'-F. En otras modalidades, la porción de azúcar en cada una de las posiciones en las posiciones 2, 5 y 14 de la hebra antisentido se modifica con el 2'-F. En otras modalidades, la porción de azúcar en cada una de las posiciones en las posiciones 1, 2, 5 y 14 de la hebra antisentido se modifica con el 2'-F. En otras modalidades, la porción de azúcar en cada una de las posiciones en las posiciones 2, 4, 5 y 14 de la hebra antisentido se modifica con el 2'-F. Aun en otras modalidades más, la porción de azúcar en cada una de las posiciones en las posiciones 1, 2, 3, 5, 7 y 14 de la hebra antisentido se modifica con el 2'-F. En otras modalidades, la porción de azúcar en cada una de las posiciones en las posiciones 2, 3, 4, 5, 7 y 14 de la hebra antisentido se modifica con el 2'-F. Aun en otra modalidad, la porción de azúcar en cada una de las posiciones en las posiciones 1, 2, 3, 5, 10 y 14 de la hebra antisentido se modifica con el 2'-F. En otras modalidades, la porción de azúcar en cada una de las posiciones en las posiciones 2, 3, 4, 5, 10 y 14 de la hebra antisentido se modifica con el 2'-F. En otra modalidad, la porción de azúcar en cada una de las posiciones en las posiciones 2, 3, 5, 7, 10 y 14 de la hebra antisentido se modifica con el 2'-F. Aun en otra modalidad, la porción de azúcar en cada una de las posiciones en las posiciones 2, 3, 4, 5, 7, 10 y 14 de la hebra antisentido se modifica con el 2'-F.

En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción comprende una hebra antisentido que tiene el resto de azúcar en la posición 1, posición 2, posición 3, posición 4, posición 5, posición 6, posición 7, posición 8, posición 9, posición 10, posición 11, posición 12, posición 13, posición 14, posición 15, posición 16, posición 17, posición 18, posición 19, posición 20, posición 21 o posición 22 modificado con 2'-F.

En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción

comprende una hebra antisentido que tiene el resto de azúcar en la posición 1, posición 2, posición 3, posición 4, posición 5, posición 6, posición 7, posición 8, posición 9, posición 10, posición 11, posición 12, posición 13, posición 14, posición 15, posición 16, posición 17, posición 18, posición 19, posición 20, posición 21 o posición 22 modificado con 2'-OMe.

En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción comprende una hebra antisentido que tiene el resto de azúcar en la posición 1, posición 2, posición 3, posición 4, posición 5, posición 6, posición 7, posición 8, posición 9, posición 10, posición 11, posición 12, posición 13, posición 14, posición 15, posición 16, posición 17, posición 18, posición 19, posición 20, posición 21 o posición 22 modificado con una modificación que se selecciona del grupo que consiste en 2'-O-propargilo, 2'-O-propilamina, 2'-amino, 2'-etilo, 2'-aminoetilo (EA), 2'-O-metilo (2'-OMe), 2'-O-metoxietilo (2'-MOE), 2'-O-[2-(metilamino)-2-oxoetilo] (2'-O-NMA) y ácido 2'-desoxi-2'-fluoro- β -D-arabinonucleico (2'-FANA).

En algunas modalidades, un oligonucleótido proporcionado en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene el resto de azúcar en las posiciones 8-11 modificado con 2'-F. En algunas modalidades, un oligonucleótido proporcionado en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene el resto de azúcar en las posiciones 3, 8, 9, 10, 12, 13 y 17 modificado con 2'-F. En algunas modalidades, un oligonucleótido proporcionado en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene el resto de azúcar en las posiciones 1-7 y 12-17 o 12-20 modificado con 2'OMe. En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene el resto de azúcar en las posiciones 1-7, 12-27 y 31-36 modificado con 2'OMe. En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene el resto de azúcar de cada uno de los nucleótidos en las posiciones 1-7 y 12-17 o 12-20 de la hebra sentido modificado con una modificación que se selecciona del grupo que consiste en 2'-O-propargilo, 2'-O-propilamina, 2'-amino, 2'-etilo, 2'-aminoetilo (EA), 2'-O-metilo (2'-OMe), 2'-O-metoxietilo (2'-MOE), 2'-O-[2-(metilamino)-2-oxoetilo] (2'-O-NMA) y ácido 2'-desoxi-2'-fluoro- β -D-arabinonucleico (2'-FANA). En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción comprende una hebra sentido

que tiene el resto de azúcar en las posiciones 1-2, 4-7, 11, 14-16 y 18-20 modificado con 2'OMe. En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene el resto de azúcar de cada uno de los nucleótidos en las posiciones 1-2, 4-7, 11, 14-16 y 18-20 de la hebra sentido modificado con una modificación que se selecciona del grupo que consiste en 2'-O-propargilo, 2'-O-propilamina, 2'-amino, 2'-etilo, 2'-aminoetilo (EA), 2'-O-metilo (2'-OMe), 2'-O-metoxietilo (2'-MOE), 2'-O-[2-(metilamino)-2-oxoetilo] (2'-O-NMA) y ácido 2'-desoxi-2'-fluoro-β-d-arabinonucleico (2'-FANA).

En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene el resto de azúcar en la posición 1, posición 2, posición 3, posición 4, posición 5, posición 6, posición 7, posición 8, posición 9, posición 10, posición 11, posición 12, posición 13, posición 14, posición 15, posición 16, posición 17, posición 18, posición 19, posición 20, posición 21, posición 22, posición 23, posición 24, posición 25, posición 26, posición 27, posición 28, posición 29, posición 30, posición 31, posición 32, posición 33, posición 34, posición 35, o posición 36 modificado con 2'-F.

En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene el resto de azúcar en la posición 1, posición 2, posición 3, posición 4, posición 5, posición 6, posición 7, posición 8, posición 9, posición 10, posición 11, posición 12, posición 13, posición 14, posición 15, posición 16, posición 17, posición 18, posición 19, posición 20, posición 21, posición 22, posición 23, posición 24, posición 25, posición 26, posición 27, posición 28, posición 29, posición 30, posición 31, posición 32, posición 33, posición 34, posición 35 o posición 36 modificado con 2'-OMe.

En algunas modalidades, un oligonucleótido proporcionado en la presente descripción comprende una hebra sentido que tiene el resto de azúcar en la posición 1, posición 2, posición 3, posición 4, posición 5, posición 6, posición 7, posición 8, posición 9, posición 10, posición 11, posición 12, posición 13, posición 14, posición 15, posición 16, posición 17, posición 18, posición 19, posición 20, posición 21, posición 22, posición 23, posición 24, posición 25, posición 26, posición 27, posición 28, posición 29, posición 30, posición 31, posición 32, posición 33, posición 34, posición 35 o posición 36 modificada con una modificación que se selecciona del grupo que consiste en 2'-O-propargilo, 2'-O-

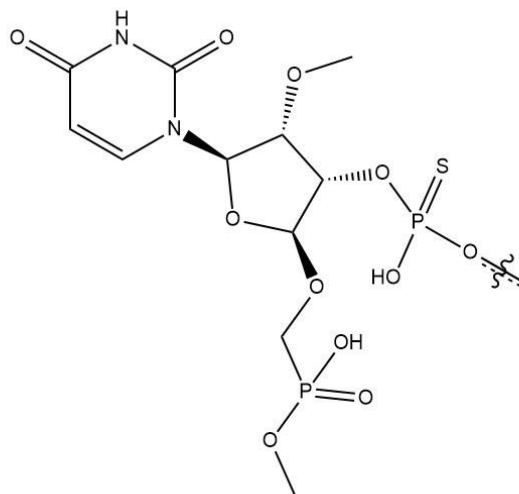
propilamina, 2'-amino, 2'-etilo, 2'-aminoetilo (EA), 2'-O-metilo (2'-OMe), 2'-O-metoxietilo (2'-MOE), 2'-O-[2 -(metilamino)-2-oxoetilo] (2'-O-NMA) y ácido 2'-desoxi-2'-fluoro-β-d-arabinonucleico (2'-FANA).

b. Fosfatos en el extremo terminal 5'

En algunas modalidades, los grupos fosfato del extremo terminal 5' de un oligonucleótido mejoran la interacción con Ago2. Sin embargo, los oligonucleótidos que comprenden un grupo fosfato 5' pueden ser susceptibles a la degradación por medio de fosfatasas u otras enzimas, que pueden limitar su biodisponibilidad *in vivo*. En algunas modalidades, los oligonucleótidos incluyen análogos de fosfatos 5' que son resistentes a tal degradación. En algunas modalidades, un análogo de fosfato puede ser oximetilfosfonato, vinilfosfonato o malonilfosfonato. En determinadas modalidades, el extremo 1' de una hebra de oligonucleótido se une a una porción química que imita las propiedades electrostáticas y estéricas de un grupo fosfato 5' natural (“mimético de fosfato”).

En algunas modalidades, un oligonucleótido tiene un análogo de fosfato en una posición de carbono 4' del azúcar (denominado como “análogo de 4'-fosfato”). Ver, por ejemplo, publicación de solicitud de patente internacional núm. WO 2018/045317. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende un análogo de 4'-fosfato en un nucleótido del extremo terminal 5'. En algunas modalidades, un análogo de fosfato es un oximetilfosfonato, en el que el átomo de oxígeno del grupo oximetilo se une a la porción de azúcar (por ejemplo, en su carbono 4') o análogo de este. En otras modalidades, un análogo de 4'-fosfato es un tiometilfosfonato o un aminometilfosfonato, en el que el átomo de azufre del grupo tiometilo o el átomo de nitrógeno del grupo aminometilo se une al carbono 4' de la porción de azúcar o análogo de este. En determinadas modalidades, un análogo de 4'-fosfato es un oximetilfosfonato. En algunas modalidades, un oximetilfosfonato se representa mediante la fórmula $\text{--O--CH}_2\text{--PO(OH)}_2$ o $\text{--O--CH}_2\text{--PO(OR)}_2$, en la que R se selecciona independientemente de H, CH₃, un grupo alquilo, CH₂CH₂CN, CH₂OCOC(CH₃)₃, CH₂OCH₂CH₂Si (CH₃)₃ o un grupo protector. En determinadas modalidades, el grupo alquilo es CH₂CH₃. Más típicamente, R se selecciona independientemente de H, CH₃ o CH₂CH₃.

En algunas modalidades, un oligonucleótido que se proporciona en la presente descripción comprende una hebra antisentido que comprende un análogo de 4'-fosfato en el nucleótido



For the purpose of this study, the following hypotheses were formulated:

enlace internucleotídico modificado de uno cualquiera de los oligonucleótidos como se describe en la presente descripción es un enlace 4'-O-metilen fosfonato.

En algunas modalidades, el oligonucleótido descrito en la presente descripción tiene un enlace fosforotioato entre una o más de las posiciones 1 y 2 de la hebra sentido, posiciones 1 y 2 de la hebra antisentido, posiciones 2 y 3 de la hebra antisentido, posiciones 3 y 4 de la hebra antisentido, posiciones 20 y 21 de la hebra antisentido, y las posiciones 21 y 22 de la hebra antisentido. En algunas modalidades, el oligonucleótido descrito en la presente descripción tiene un enlace fosforotioato entre cada una de las posiciones 1 y 2 de la hebra sentido, posiciones 1 y 2 de la hebra antisentido, posiciones 2 y 3 de la hebra antisentido, posiciones 20 y 21 de la hebra antisentido, y las posiciones 21 y 22 de la hebra antisentido.

d. Modificaciones de bases

En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción tienen una o más nucleobases modificadas. En algunas modalidades, las nucleobases modificadas (también denominadas en la presente descripción como análogos de bases) se unen en la posición 1' de una porción de azúcar del nucleótido. En determinadas modalidades, una nucleobase modificada es una base nitrogenada. En algunas modalidades, una nucleobase modificada no contiene un átomo de nitrógeno. Ver, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente de EE. UU. núm. 2008/0274462. En algunas modalidades, un nucleótido modificado comprende una base universal. Sin embargo, en determinadas modalidades, un nucleótido modificado no contiene una nucleobase (abásico).

En algunas modalidades, una base universal es una porción heterocíclica que se localiza en la posición 1' de una porción de azúcar del nucleótido en un nucleótido modificado, o la posición equivalente en una sustitución de la porción de azúcar del nucleótido, que, cuando está presente en un híbrido, puede ubicarse opuesto a más de un tipo de base sin alterar sustancialmente la estructura del híbrido. En algunas modalidades, en comparación con un ácido nucleico monocatenario de referencia (por ejemplo, un oligonucleótido) que es totalmente complementario a un ácido nucleico diana un ácido nucleico monocatenario que contiene una base universal forma un híbrido con el ácido nucleico diana que tiene una T_m más baja que un híbrido formado con el ácido nucleico complementario. En algunas modalidades, cuando se compara con un ácido nucleico monocatenario de referencia en el que la base universal se ha reemplazado por una base para generar un único error de

apareamiento, el ácido nucleico monocatenario que contiene la base universal forma un híbrido con el ácido nucleico diana que tiene una T_m más alta que un híbrido formado con el ácido nucleico que comprende la base desapareada.

Los ejemplos no limitantes de nucleótidos de unión universal incluyen, pero sin limitarse a, inosina, 1- β -D-ribofuranosil-5-nitroindol y/o 1- β -D-ribofuranosil-3-nitropirrol (ver, publicación de solicitud de patente de EE. UU. núm. 2007/0254362; Van Aerschot y otros (1995) NUCLEIC ACIDS RES. 23:4363-4370; Loakes y otros (1995) NUCLEIC ACIDS RES. 23:2361-66; y Loakes y Brown (1994) NUCLEIC ACIDS RES. 22:4039-43).

e. Modificaciones reversibles

Aunque pueden realizarse determinadas modificaciones para proteger un oligonucleótido del entorno *in vivo* antes de alcanzar las células diana, estas pueden reducir la potencia o actividad del oligonucleótido una vez que alcanza el citosol de la célula diana. Pueden realizarse modificaciones reversibles de manera que la molécula conserve las propiedades convenientes fuera de la célula, que después se eliminan al entrar en el entorno citosólico de la célula. La modificación reversible puede eliminarse, por ejemplo, por la acción de una enzima intracelular o por las condiciones químicas dentro de una célula (por ejemplo, mediante la reducción por glutatión intracelular).

En algunas modalidades, un nucleótido modificado reversiblemente comprende una porción sensible al glutatión. Típicamente, las moléculas de ácido nucleico se han modificado químicamente con porciones de disulfuro cíclico para enmascarar la carga negativa creada por los enlaces de difosfato internucleótidos y mejorar la captación celular y la resistencia a la nucleasa. Ver la publicación de solicitud de patente de EE. UU. núm. 2011/0294869, publicación de solicitud de patente internacional núm. WO 2014/088920 y WO 2015/188197, y Meade y otros, (2014) NAT. BIOTECHNOL. 32:1256-63. Esta modificación reversible de los enlaces de difosfato internucleótidos está diseñada para escindirse intracelularmente mediante el entorno reductor del citosol (por ejemplo, glutatión). Los ejemplos anteriores incluyen modificaciones de fosfotriéster neutralizantes que se informó que eran escindibles dentro de las células (ver, Dellinger y otros, (2003) J. AM. CHEM. SOC. 125:940-50).

En algunas modalidades, tal modificación reversible permite la protección durante la administración *in vivo* (por ejemplo, el tránsito a través de la sangre y/o compartimentos

lisosómicos/endosómicos de una célula) donde el oligonucleótido se expone a nucleasas y otras condiciones ambientales severas (por ejemplo, pH). Cuando se libera en el citosol de una célula donde los niveles de glutatión son más altos en comparación con el espacio extracelular, la modificación se invierte y el resultado es un oligonucleótido escindido. Mediante el uso de porciones reversibles sensibles al glutatión, es posible introducir grupos químicos más grandes desde el punto de vista estérico en el oligonucleótido de interés cuando se compara con las opciones disponibles mediante el uso de modificaciones químicas irreversibles. Esto se debe a que estos grupos químicos más grandes se eliminarán en el citosol y, por lo tanto, no deberían interferir con la actividad biológica de los oligonucleótidos dentro del citosol de una célula. Como resultado, estos grupos químicos más grandes pueden modificarse genéticamente para conferir varias ventajas al nucleótido u oligonucleótido, tales como resistencia a nucleasas, lipofilicidad, carga, estabilidad térmica, especificidad e inmunogenicidad reducida. En algunas modalidades, la estructura de la porción sensible al glutatión puede modificarse genéticamente para modificar la cinética de su liberación.

En algunas modalidades, una porción sensible al glutatión se une al azúcar del nucleótido. En algunas modalidades, una porción sensible al glutatión se une al carbono 2' del azúcar de un nucleótido modificado. En algunas modalidades, la porción sensible al glutatión se localiza en el carbono 5' de un azúcar, particularmente cuando el nucleótido modificado es el nucleótido del extremo terminal 5' del oligonucleótido. En algunas modalidades, la porción sensible al glutatión se localiza en el carbono 3' del azúcar, particularmente cuando el nucleótido modificado es el nucleótido del extremo terminal 3' del oligonucleótido. En algunas modalidades, la porción sensible al glutatión comprende un grupo sulfonilo. Ver, por ejemplo, la solicitud de patente provisional de EE. UU. núm. 62/378,635, titulada *Compositions Comprising Reversibly Modified Oligonucleotides and Uses Thereof*, que se presentó el 23 de agosto de 2016.

Oligonucleótidos Inhibidores de STAT3

En algunos aspectos, la descripción proporciona, entre otros, oligonucleótidos que reducen o inhiben la expresión de STAT3. En algunas modalidades, un oligonucleótido que inhibe la expresión de STAT3 en la presente descripción se dirige a un ARNm de *STAT3*. La secuencia del ARNm de *STAT3* humano (NM_001369512.1) se expone como la SEQ ID

NO: 85 o NM_139276.3 (SEQ ID NO: 1217). STAT3 es una diana conocida para los tratamientos convencionales contra el cáncer.

Las actividades tolerogénicas de las MDSC están controladas por un factor de transcripción oncogénico, un transductor de señal y un activador de la transcripción 3 (STAT3) (Su y otros, INT J. MOL SCI (2018) 19(6): 1803). También se sabe que STAT3 se expresa altamente en una serie de tipos de cáncer y en modelos preclínicos *in vitro* e *in vivo* (Huynh y otros, NAT. REV. CANCER (2019) 19: 82-96). La inhibición de STAT3 conduce a la apoptosis selectiva de las células tumorales y a la inhibición del crecimiento tumoral mediante la modulación de genes diana aguas abajo (Wang y otros, INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL SCIENCES, 15(3): 668–79 (2019)). STAT3 es de especial interés en inmunooncología debido a sus contribuciones bien documentadas a un microentorno tumoral inmunosupresor. STAT3 contribuye a un microentorno tumoral inmunosupresor mediante la regulación positiva del receptor inhibidor expresado por los linfocitos T, y mediante la expresión de su ligando (PD-1/PD-L1), mediante el aumento de la secreción de IFN γ ((Bu y otros, JOURNAL OF DENTAL RESEARCH, 96(9): 1027–34 (2017)). Se conoce desde hace mucho tiempo que la inhibición de la señalización de STAT3 en las células presentadoras de antígenos (APC) resulta en la activación de los linfocitos T CD4+ específicos del antígeno en respuesta a estímulos de cualquier otra manera tolerogénicos (Cheng y otros, IMMUNITY, 19: 425–36 (2003)). Además, el STAT3 fosforilado en las MDSC contribuye directamente a la modulación del microentorno tumoral supresor mediante la regulación de componentes supresores tales como el aminoácido arginina, a través del control transcripcional (Vasques-Dunndel y otros, J. CLIN. INVEST., 15(3): 668–79 (2013)). A lo largo de los años se han explorado varias metodologías para abordar terapéuticamente el STAT3. Aunque el direccionamiento directo de la proteína es atractivo, la verdadera diana es una interacción proteína-proteína que se ha mantenido como ejemplo de una diana ‘fuera del alcance de un fármaco’ debido a los datos históricos que muestran que múltiples clases de compuestos no han podido inhibir eficazmente su actividad (Lau y otros, CANCERS (2019) 11(11): 1681, Zou y otros, MOL CANCER (2020) 19: 145). Además, la expresión omnipresente de STAT3 en varios tejidos ha conducido a preocupaciones sobre toxicidades graves en la diana (Wong y otros, EXPERT OPINION ON INVESTIGATIONAL DRUGS, 26 (8):883-87 (2017), (Kortylewski y otros, CANCER

IMMUNOL IMMUNOTHER (2017) 66(8): 979-88).

Secuencias diana de *STAT3*

En algunas modalidades, el oligonucleótido se dirige a una secuencia diana que comprende un ARNm de *STAT3*. En algunas modalidades, el oligonucleótido, o una porción, fragmento o hebra de este (por ejemplo, una hebra antisentido o una hebra guía de un ARNbc) se une o hibrida con una secuencia diana que comprende ARNm de *STAT3*, para inhibir de esta manera la expresión de *STAT3*. En algunas modalidades, el oligonucleótido se dirige a una secuencia diana de *STAT3* con el propósito de inhibir la expresión de *STAT3* vivo. En algunas modalidades, la cantidad o extensión de la inhibición de la expresión de *STAT3* por un oligonucleótido dirigido a una secuencia diana de *STAT3* se correlaciona con la potencia del oligonucleótido. En algunas modalidades, la cantidad o extensión de la inhibición de la expresión de *STAT3* por un oligonucleótido dirigido a una secuencia diana de *STAT3* se correlaciona con la cantidad o extensión del beneficio terapéutico en un sujeto o paciente que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de *STAT3* que se trata con el oligonucleótido.

A través del examen de la secuencia de nucleótidos de los ARNm que codifican *STAT3*, que incluye ARNm de múltiples especies diferentes (por ejemplo, humano, mono cangrejero, ratón y rata; ver, por ejemplo, el Ejemplo 11) y como un resultado de las pruebas *in vitro* e *in vivo* (ver, por ejemplo, el Ejemplo 12 y el Ejemplo 13), se ha descubierto que determinadas secuencias nucleotídicas del ARNm de *STAT3* son más susceptibles que otras a la inhibición basada en oligonucleótidos y, por lo tanto, son útiles como secuencias diana para los oligonucleótidos en la presente descripción. En algunas modalidades, una hebra sentido de un oligonucleótido (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNbc) descrito en la presente descripción comprende una secuencia diana de *STAT3*. En algunas modalidades, una porción o región de la hebra sentido de un ARNbc descrito en la presente descripción comprende una secuencia diana de *STAT3*. En algunas modalidades, una secuencia diana de ARNm de *STAT3* comprende, o consiste en, una secuencia de la SEQ ID NO 85. En algunas modalidades, una secuencia diana de ARNm de *STAT3* comprende, o consiste en, una secuencia de la SEQ ID NO: 1217. En algunas modalidades, una secuencia diana de ARNm *STAT3* comprende, o consiste en, una secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 89-280. En algunas modalidades, una secuencia diana de

ARNm de *STAT3* comprende, o consiste en, la secuencia que se expone en la SEQ ID NO: 108. En algunas modalidades, una secuencia diana de ARNm de *STAT3* comprende, o consiste en, la secuencia que se expone en la SEQ ID NO: 140. En algunas modalidades, una secuencia diana de ARNm de *STAT3* comprende, o consiste en, la secuencia que se expone en la SEQ ID NO: 141. En algunas modalidades, una secuencia diana de ARNm de *STAT3* comprende, o consiste en, la secuencia que se expone en la SEQ ID NO: 147.

Secuencias de direccionamiento a *STAT3*

En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción tienen regiones de complementariedad con el ARNm de *STAT3* (por ejemplo, dentro de una secuencia diana del ARNm de *STAT3*) con el fin de dirigirse al ARNm en las células y reducir o inhibir su expresión. En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción comprenden una secuencia de direccionamiento a *STAT3* (por ejemplo, una hebra antisentido o una hebra guía de un oligonucleótido ARNbc) que tiene una región de complementariedad que se une o hibrida con una secuencia diana de *STAT3* mediante apareamiento de bases complementarias (Watson-Crick). La secuencia de direccionamiento o la región de complementariedad generalmente tienen una longitud y un contenido de bases adecuados para permitir la unión o hibridación del oligonucleótido (o una hebra de estos) a un ARNm de *STAT3* con el fin de inhibir su expresión. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de al menos aproximadamente 12, al menos aproximadamente 13, al menos aproximadamente 14, al menos aproximadamente 15, al menos aproximadamente 16, al menos aproximadamente 17, al menos aproximadamente 18, al menos aproximadamente 19, al menos aproximadamente 20, al menos aproximadamente 21, al menos aproximadamente 22, al menos aproximadamente 23, al menos aproximadamente 24, al menos aproximadamente 25, al menos aproximadamente 26, al menos aproximadamente 27, al menos aproximadamente 28, al menos aproximadamente 29 o al menos aproximadamente 30 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de aproximadamente 12 a aproximadamente 30 (por ejemplo, 12 a 30, 12 a 22, 15 a 25, 17 a 21, 18 a 27, 19 a 27 o 15 a 30) nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de aproximadamente 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23,

24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 18 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 19 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 20 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 22 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 23 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 24 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una secuencia diana o región de complementariedad complementaria a una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 89-280, y la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 18 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una secuencia diana o región de complementariedad complementaria a una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 89-280, y la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 19 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una secuencia diana o región de complementariedad complementaria a una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 473-664, y la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 20 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad complementaria a una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 473-664, y la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad complementaria a una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 473-664, y la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 22 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad complementaria a una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 473-664, y la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 23 nucleótidos de longitud. En

algunas modalidades, un oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad complementaria a una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 473-664 y la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es de 24 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una secuencia de direccionamiento o una región de complementariedad (por ejemplo, una hebra antisentido o una hebra guía de un oligonucleótido bicatenario) que es totalmente complementaria a una secuencia diana de *STAT3*. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad es parcialmente complementaria a una secuencia diana de *STAT3*. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es totalmente complementaria a una secuencia de *STAT3* o *STAT3*. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es parcialmente complementaria a una secuencia de *STAT3* o *STAT3*.

En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es totalmente complementaria a una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 89-280. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es totalmente complementaria a la secuencia que se expone en las SEQ ID NO: 108, 140, 141 y 147. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es parcialmente complementaria a una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 89-280. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es parcialmente complementaria a la secuencia que se expone en las SEQ ID NO: 108, 140, 141 y 147.

En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos que comprende un ARNm de *STAT3*, en donde la secuencia contigua de nucleótidos es de aproximadamente 12 a aproximadamente 30 nucleótidos de longitud (por ejemplo, 12 a 30, 12 a 28, 12 a 26, 12 a 24, 12 a 20, 12 a 18,

12 a 16, 14 a 22, 16 a 20, 18 a 20 o 18 a 19 nucleótidos de longitud). En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos que comprende un ARNm de *STAT3*, en donde la secuencia contigua de nucleótidos es de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos que comprende un ARNm de *STAT3*, en donde la secuencia contigua de nucleótidos es de 19 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) comprende una secuencia de direccionamiento o una región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 89-280, opcionalmente en donde la secuencia contigua de nucleótidos es de 19 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o una región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 108, 140, 141 y 147, en donde la secuencia contigua de nucleótidos es de 19 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o una región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 473-664, en donde la secuencia contigua de nucleótidos es de 20 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o una región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 492, 524, 525 y 531, en donde la secuencia contigua de nucleótidos es de 20 nucleótidos de longitud.

En algunas modalidades, una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad de un oligonucleótido que es complementaria a nucleótidos contiguos de *STAT3* o a una secuencia diana de *STAT3* abarca la longitud total de una hebra antisentido. En algunas modalidades, una región de complementariedad de un oligonucleótido que es complementaria a nucleótidos contiguos de *STAT3* o a una secuencia diana de *STAT3* abarca una porción de la longitud total de una hebra antisentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una región de complementariedad (por ejemplo, en una hebra antisentido de un ARNbc) que es al menos parcialmente (por ejemplo, totalmente) complementaria a un tramo contiguo de nucleótidos que abarca los nucleótidos 1-20 de una secuencia diana de *STAT3* o *STAT3*.

En algunas modalidades, una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad de un oligonucleótido en la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 89-280 y abarca la longitud total de una hebra antisentido. En algunas modalidades, una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad del oligonucleótido es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de las SEQ ID NO: 89-280 y abarca una porción de la longitud total de una hebra antisentido. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) comprende una región de complementariedad (por ejemplo, en una hebra antisentido de un ARNbc) que es al menos parcialmente (por ejemplo, totalmente) complementaria a un tramo contiguo de nucleótidos que abarca los nucleótidos 1-19 o 1-20 de una secuencia como se expone en una cualquiera de las SEQ ID NO: 473-664.

En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que tiene uno o más pb mal apareados con la secuencia diana de *STAT3* correspondiente. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad puede tener hasta aproximadamente 1, hasta aproximadamente 2, hasta aproximadamente 3, hasta aproximadamente 4, hasta aproximadamente 5, etc. errores de apareamiento con la secuencia diana de *STAT3* correspondiente siempre y cuando se mantenga la capacidad de la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad para unirse o hibridar con el ARNm de *STAT3* en condiciones de hibridación apropiadas y/o la capacidad del oligonucleótido para inhibir la expresión de *STAT3*. Alternativamente, la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad puede tener no más de 1, no más de 2, no más de 3, no más de 4 o no más de 5 errores de apareamiento con la secuencia diana de *STAT3* correspondiente siempre y cuando se mantenga la capacidad de la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad para unirse o hibridar con el ARNm de *STAT3* en condiciones de

hibridación apropiadas y/o la capacidad del oligonucleótido para inhibir la expresión de *STAT3*. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que tiene 1 error de apareamiento con la secuencia diana correspondiente. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que tiene 2 errores de apareamiento con la secuencia diana correspondiente. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que tiene 3 errores de apareamiento con la secuencia diana correspondiente. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que tiene 4 errores de apareamiento con la secuencia diana correspondiente. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que tiene 5 errores de apareamiento con la secuencia diana correspondiente. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que tiene más de un error de apareamiento (por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más errores de apareamiento) con la secuencia diana correspondiente, en donde al menos 2 (por ejemplo, todos) de los errores de apareamiento se ubican consecutivamente (por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más errores de apareamiento en una fila), o donde los errores de apareamiento están intercalados a lo largo de la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o una región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 89-280, en donde la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad puede tener hasta aproximadamente 1, hasta aproximadamente 2, hasta aproximadamente 3, hasta aproximadamente 4, hasta aproximadamente 5, etc. errores de apareamiento con la secuencia diana de *STAT3* correspondiente. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 89-280, en donde la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad puede tener no más de 1, no más de 2, no más de 3, no más de 4 o no más de 5 errores de apareamiento con la secuencia diana de *STAT3* correspondiente. En algunas modalidades,

el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o una región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 108, 140, 141 y 147, en donde la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad puede tener hasta aproximadamente 1, hasta aproximadamente 2, hasta aproximadamente 3, hasta aproximadamente 4, hasta aproximadamente 5, etc. errores de apareamiento con la secuencia diana de *STAT3* correspondiente. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una secuencia de direccionamiento o una región de complementariedad que es complementaria a una secuencia contigua de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 108, 140, 141 y 147, en donde la secuencia de direccionamiento o región de complementariedad puede tener no más de 1, no más de 2, no más de 3, no más de 4 o no más de 5 errores de apareamiento con la secuencia diana de *STAT3* correspondiente.

Ligandos de direccionamiento

En algunas modalidades, es conveniente dirigir los oligonucleótidos dirigidos a *STAT3* de la descripción a una o más células o uno o más órganos. Tal estrategia puede ayudar a evitar efectos no deseados en otros órganos o evitar la pérdida indebida del oligonucleótido en células, tejidos u órganos que no se beneficiarían del oligonucleótido. El direccionamiento de oligonucleótidos a una o más células o uno o más órganos puede lograrse a través de una variedad de enfoques. La conjugación de oligonucleótidos a anticuerpos específicos de tejidos o células, moléculas pequeñas o ligandos de direccionamiento puede facilitar el suministro y modificar la acumulación del oligonucleótido en una o más células o tejidos diana (Chernolovskaya y otros, (2019) FRONT PHARMACOL. 10:444). Por ejemplo, la conjugación de un oligonucleótido a un ácido graso saturado (por ejemplo, C22) puede facilitar el suministro a células o tejidos como tejido adiposo o células inmunitarias que absorben tales ligandos más fácilmente que los ligandos oligonucleotídicos convencionales. En consecuencia, en algunas modalidades, los oligonucleótidos descritos en la presente descripción se modifican para facilitar el direccionamiento y/o el suministro de un tejido, células u órganos (por ejemplo, para facilitar el suministro del oligonucleótido al hígado). En determinadas modalidades, los oligonucleótidos descritos en la presente descripción se modifican para facilitar el suministro del oligonucleótido a las células del sistema inmunitario. En determinadas

modalidades, los oligonucleótidos descritos en la presente descripción se modifican para facilitar el suministro del oligonucleótido a células supresoras de origen mieloide. En algunas modalidades, un oligonucleótido comprende al menos un nucleótido (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más nucleótidos) conjugados con uno o más ligandos de direccionamiento. En algunas modalidades, el ligando de direccionamiento comprende un carbohidrato, aminoazúcar, colesterol, péptido, polipéptido, proteína o parte de una proteína (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo), o lípido. En algunas modalidades, el ligando de direccionamiento es un aptámero. Por ejemplo, un ligando de direccionamiento puede ser un péptido de RGD que se usa para dirigirse a la vasculatura tumoral o células de glioma, péptido CREKA para dirigirse a la vasculatura tumoral o estroma, transferencia, lactoferrina o un aptámero para dirigirse a los receptores de transferrina expresados en la vasculatura del SNC, o un anticuerpo anti-EGFR para dirigirse al EGFR en células de glioma. En determinadas modalidades, el ligando de direccionamiento es una o más porciones de GalNAc.

En algunas modalidades, 1 o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6) nucleótidos de un oligonucleótido se conjugan cada uno con un ligando de direccionamiento separado. En algunas modalidades, de 2 a 4 nucleótidos de un oligonucleótido se conjugan cada uno con un ligando de direccionamiento diferente. En algunas modalidades, los ligandos de direccionamiento se conjugan con 2 a 4 nucleótidos en cualquiera de los extremos de la hebra sentido o antisentido (por ejemplo, los ligandos de direccionamiento se conjugan con un saliente o extensión de 2 a 4 nucleótidos en el extremo terminal 5' o 3' de la hebra sentido o antisentido) de manera que los ligandos de direccionamiento se asemejan a las cerdas de un cepillo de dientes y el oligonucleótido se parece a un cepillo de dientes. Por ejemplo, un oligonucleótido puede comprender una estructura de tallo y lazo en el extremo terminal 5' o 3' de la hebra sentido y 1, 2, 3 o 4 nucleótidos del lazo del tallo pueden conjugarse individualmente con un ligando de direccionamiento. En algunas modalidades, un oligonucleótido (por ejemplo, ARN_{bc}) que se proporciona por la descripción comprende una estructura de tallo y lazo en el extremo 3' terminal de la hebra sentido, en donde el lazo de la estructura de tallo y lazo comprende un trilazo o un tetralazo, y en donde los 3 o 4 nucleótidos que comprenden el trilazo o tetralazo, respectivamente, se conjugan individualmente a un ligando de direccionamiento. En algunas modalidades, un

oligonucleótido que se proporciona por la descripción (por ejemplo, un oligonucleótido de ARNi) comprende una estructura de tallo y lazo en el extremo terminal 3' de la hebra sentido, en donde el lazo de la estructura de tallo y lazo comprende un tetralazo, y en donde 3 nucleótidos del tetralazo se conjugan individualmente con un ligando de direccionamiento.

GalNAc es un ligando de carbohidrato de alta afinidad por el ASGPR, que se expresa principalmente en la superficie sinusoidal de los hepatocitos y tiene un papel importante en la unión, internalización y eliminación subsecuente de glicoproteínas circulantes que contienen residuos terminales de galactosa o GalNAc (asialoglicoproteínas). La conjugación (directa o indirecta) de porciones GalNAc con los oligonucleótidos en la presente descripción puede usarse para dirigir estos oligonucleótidos al ASGPR expresado en las células. En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción se conjuga con al menos una o más porciones GalNAc, en donde las porciones GalNAc dirigen el oligonucleótido a un ASGPR expresado en células hepáticas humanas (por ejemplo, hepatocitos humanos). En algunas modalidades, la porción GalNAc dirige el oligonucleótido al hígado.

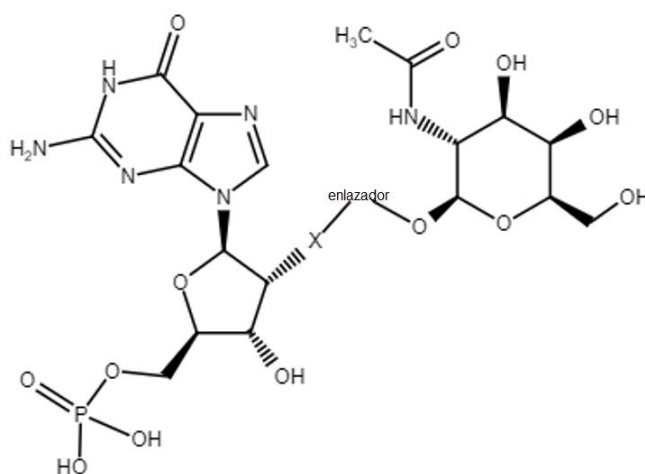
En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción se conjuga directa o indirectamente con una porción GalNAc monovalente. En algunas modalidades, el oligonucleótido se conjuga directa o indirectamente con más de un GalNAc monovalente (es decir, se conjuga con 2, 3 o 4 porciones de GalNAc monovalentes y típicamente se conjuga con 3 o 4 porciones de GalNAc monovalentes). En algunas modalidades, un oligonucleótido se conjuga con uno o más porciones de GalNAc bivalentes, GalNAc trivalentes o GalNAc tetravalentes.

En algunas modalidades, 1 o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6) nucleótidos de un oligonucleótido se conjugan cada uno con una porción GalNAc. En algunas modalidades, de 2 a 4 nucleótidos de un tetralazo se conjuga con un GalNAc separado. En algunas modalidades, 1 a 3 nucleótidos de un trilazo se conjuga con un GalNAc separado. En algunas modalidades, los ligandos de direccionamiento se conjugan con 2 a 4 nucleótidos en cualquiera de los extremos de la hebra sentido o antisentido (por ejemplo, los ligandos se conjugan con un saliente o extensión de 2 a 4 nucleótidos en el extremo terminal 5' o 3' de la hebra sentido o antisentido) de manera que las porciones GalNAc se asemejan a las

cerdas de un cepillo de dientes y el oligonucleótido se asemeja a un cepillo de dientes. En algunas modalidades, las porciones de GalNAc se conjugan con un nucleótido de la hebra sentido. Por ejemplo, 4 porciones de GalNAc pueden conjugarse con nucleótidos en el tetralazo de la hebra sentido donde cada porción GalNAc se conjuga con 1 nucleótido.

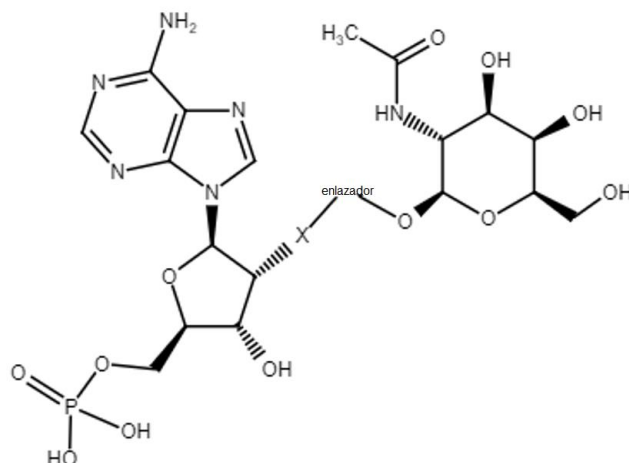
En algunas modalidades, el tetralazo es cualquier combinación de nucleótidos de adenina y guanina.

En algunas modalidades, el tetralazo (tetraL) comprende una porción GalNAc monovalente unido a uno cualquiera o más nucleótidos de guanina del tetralazo mediante cualquier enlazador que se describe en la presente descripción, como se muestra más abajo en la sustancia química 2 (X=heteroátomo):



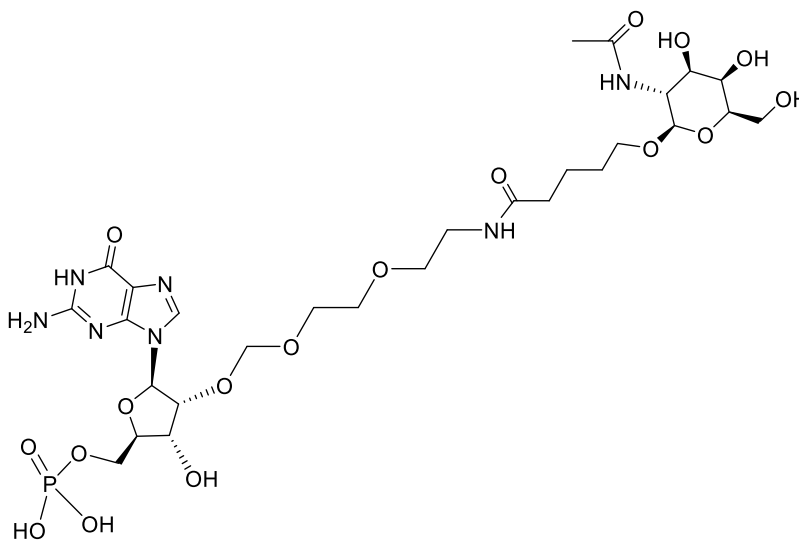
Sustancia química 2

En algunas modalidades, el tetralazo (tetraL) tiene un GalNAc monovalente unido a uno o más nucleótidos de adenina del tetralazo mediante cualquier enlazador descrito en la presente descripción, como se muestra más abajo en la sustancia química 3 (X=heteroátomo):



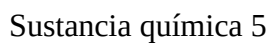
Sustancia química 3

En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una porción GalNAc monovalente unido a un nucleótido de adenina, denominado [ademG-GalNAc] o 2'-aminodietoximetanol-guanina-GalNAc, como se muestra más abajo en la sustancia química 4:

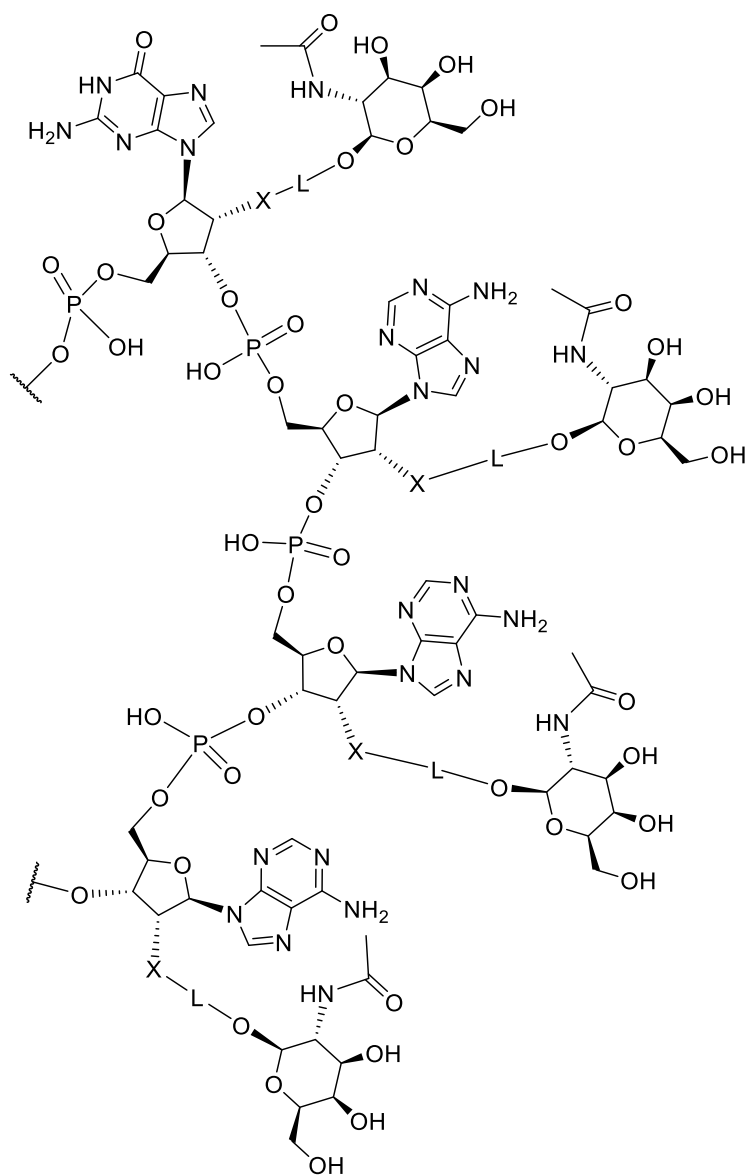


Sustancia química 4

En algunas modalidades, un oligonucleótido en la presente descripción comprende una porción GalNAc monovalente unido a un nucleótido de adenina, denominado [ademA-GalNAc] o 2'-aminodietoximetanol-adenina-GalNAc, como se muestra más abajo en la sustancia química 5:



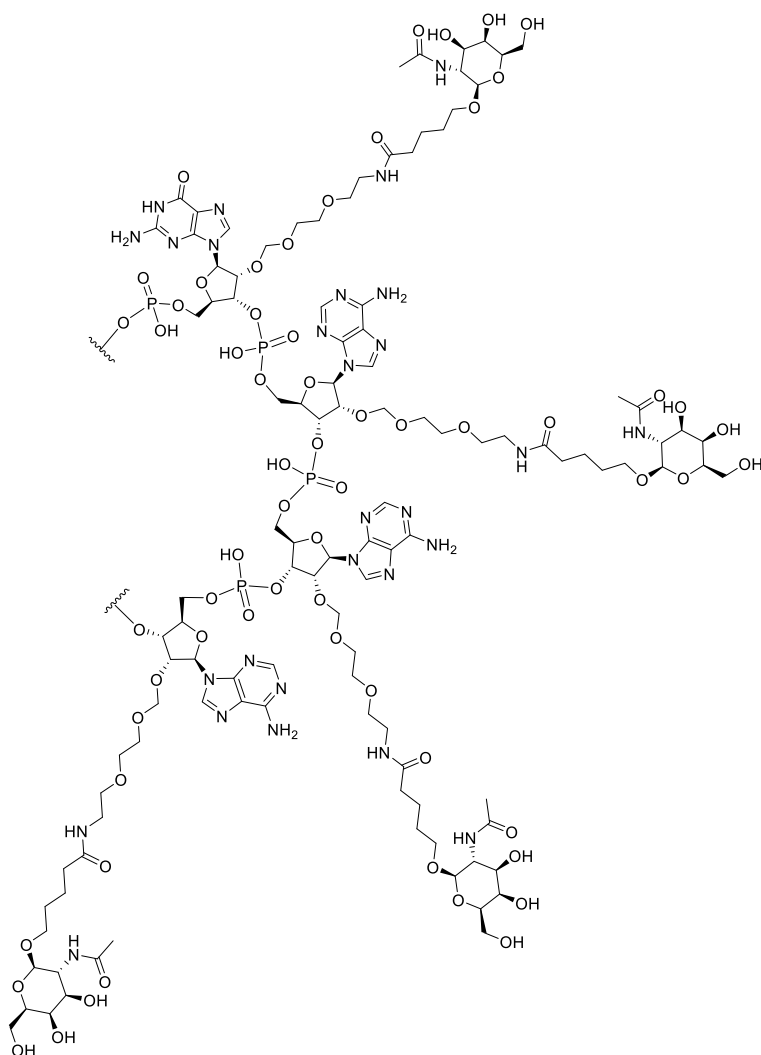
Más abajo se muestra un ejemplo de dicha conjugación (sustancia química 6) para un lazo que comprende de 5' a 3' la secuencia de nucleótidos GAAA (L = enlazador, X = heteroátomo), se muestran los puntos de unión del tallo. Tal lazo puede estar presente, por ejemplo, en las posiciones 27-30 de la hebra sentido como se muestra en la Figura 1. En la fórmula química,  se usa para describir un punto de unión a la hebra de oligonucleótidos (Sustancia química 6).



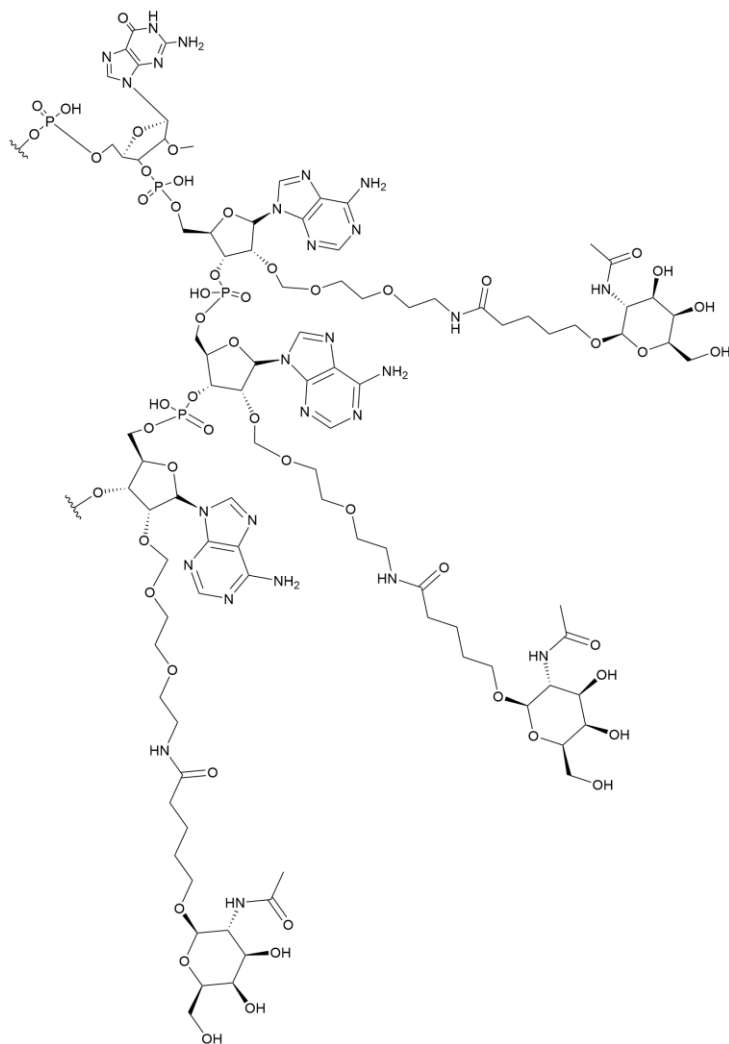
Sustancia química 6

Se puede usar los métodos o la química apropiados (por ejemplo, química clic) para unir un ligando de direccionamiento a un nucleótido. En algunas modalidades, un ligando de direccionamiento se conjuga con un nucleótido mediante el uso de un enlace de clic. En algunas modalidades, se usa un enlazador basado en acetal para conjugar un ligando de direccionamiento a un nucleótido de cualquiera de los oligonucleótidos que se describen en la presente descripción. Los enlazadores basados en acetal se describen, por ejemplo, en publicación de solicitud de patente internacional núm. WO 2016/100401. En algunas modalidades, el enlazador es un enlazador lábil. Sin embargo, en otras modalidades, el enlazador es estable. Más abajo se muestra un ejemplo de un lazo que comprende de 5' a 3'

los nucleótidos GAAA, en el que las porciones de GalNAc se unen a los nucleótidos del lazo mediante el uso de un enlazador de acetal (Sustancia química 7 y Sustancia química 8). Dicho lazo puede estar presente, por ejemplo, en las posiciones 27-30 de una cualquiera de las hebras sentido como se muestra en la Figura 1. En la fórmula química,  es un punto de unión a la hebra del oligonucleótido (Sustancia química 7 y Sustancia química 8).



Sustancia química 6, o



Sustancia química 7.

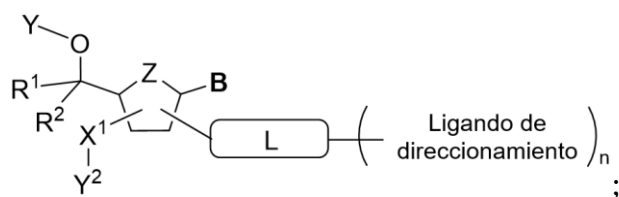
Como se menciona, pueden usarse varios métodos o técnicas de síntesis química adecuados (por ejemplo, química clic) para unir un ligando de direccionamiento a un nucleótido. En algunas modalidades, un ligando de direccionamiento se conjuga con un nucleótido mediante el uso de un enlace de clic. En algunas modalidades, se usa un enlazador basado en acetal para conjugar un ligando de direccionamiento a un nucleótido de cualquiera de los oligonucleótidos que se describen en la presente descripción. Los enlazadores basados en acetal se describen, por ejemplo, en publicación de solicitud de patente internacional núm. WO 2016/100401. En algunas modalidades, el enlazador es un enlazador lábil. Sin embargo, en otras modalidades, el enlazador es un enlazador estable.

En algunas modalidades, se proporciona una extensión híbrida (por ejemplo, de hasta 3, 4, 5 o 6 pb de longitud) entre un ligando de direccionamiento (por ejemplo, una porción GalNAc) y un ARNbc. En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente

descripción no tienen un GalNAc conjugado con ellos.

Estructura de los conjugados de oligonucleótidos de direccionamiento a *STAT3*

En algunas modalidades, un oligonucleótido de direccionamiento a *STAT3* descrito en la presente descripción comprende una secuencia de nucleótidos que tiene una región de complementariedad con una secuencia de direccionamiento al ARNm de *STAT3* y uno o más ligandos de direccionamiento, en donde la secuencia de nucleótidos comprende uno o más nucleósidos (ácidos nucleicos) conjugados con uno o más ligandos de direccionamiento representados por la fórmula I-a:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde:

B es una nucleobase o hidrógeno;

R^1 y R^2 son independientemente hidrógeno, halógeno, R^A , -CN, -S(O)R, -S(O)₂R, -Si(OR)₂R, -Si(OR)R₂, o -SiR₃; o

R^1 y R^2 en el mismo carbono se toman junto con sus átomos intermedios para formar un anillo saturado o parcialmente insaturado de 3-7 miembros que tiene 0-3 heteroátomos, seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre;

cada R^A es independientemente un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de alifático C₁₋₆, fenilo, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre;

cada R es independientemente hidrógeno, un grupo protector adecuado, o un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de alifático C₁₋₆, fenilo, un heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno,

oxígeno y azufre; o

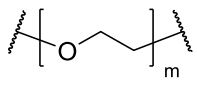
dos grupos R en el mismo átomo se toman junto con sus átomos intermedios para formar un anillo saturado, parcialmente insaturado de 4-7 miembros o heteroarilo que tiene 0-3 heteroátomos, seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, silicio y azufre;

cada ligando de direccionamiento se selecciona de porción de conjugado lipídico (LC), carbohidrato, aminoazúcar o GalNAc; y en donde cada LC es independientemente una porción de conjugado lipídico que comprende una cadena hidrocarbonada C_{1-50} saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -Cy-, -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -C(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, -P(S)OR-;

cada -Cy- es independientemente un anillo bivalente sustituido opcionalmente seleccionado de fenilenilo, un arilenilo bicíclico de 8-10 miembros, un carbociclilenilo saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un espirocarbociclilenilo saturado o parcialmente insaturado de 4-11 miembros, un carbociclilenilo bicíclico saturado o parcialmente insaturado de 8-10 miembros, un heterociclilenilo saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, un espiro heterociclilenilo saturado o parcialmente insaturado de 4-11 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, un heterociclilenilo bicíclico saturado o parcialmente insaturado de 8-10 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, un heteroarilenilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, o un heteroarilenilo bicíclico de 8-10 miembros que tiene 1-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre;

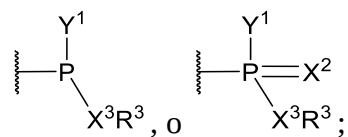
n es 1-10;

L es un enlace covalente o una cadena hidrocarbonada C_{1-50} bivalente saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -Cy-, -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -C(O)-, -C(O)O-, -

S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, -P(S)OR-, -V¹CR²W¹-, o  ;

m es 1-50;

X^1 , V^1 y W^1 son independientemente $-C(R)_2-$, $-OR$, $-O-$, $-S-$, $-Se-$, o $-NR-$;



Y es hidrógeno, un grupo protector de hidroxilo adecuado,
 R^3 es hidrógeno, un grupo protector adecuado, un profármaco adecuado, o un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de alifático C_{1-6} , fenilo, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre;

X^2 es O, S o NR;

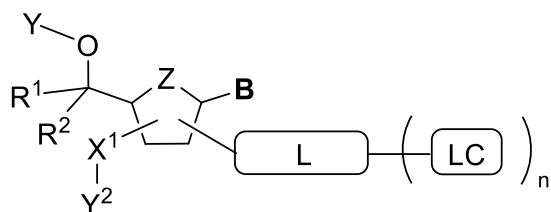
X^3 es $-O-$, $-S-$, $-BH_2-$, o un enlace covalente;

Y^1 es un grupo de enlace que se une al extremo terminal 2' o 3' de un nucleósido, un nucleótido, o un oligonucleótido;

Y^2 es hidrógeno, un grupo protector adecuado, un análogo de fosforamidita, un grupo de enlace internucleotídico que se une al extremo terminal 5' de un nucleósido, un nucleótido o un oligonucleótido, o un grupo de enlace que se une a un soporte sólido; y

Z es $-O-$, $-S-$, $-NR-$ o $-CR_2-$.

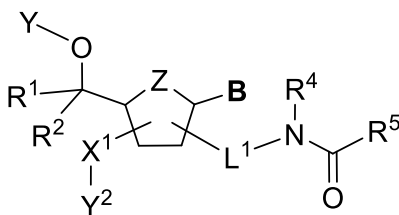
En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento de STAT3 comprende uno o más ácidos nucleicos conjugados con ligandos de direccionamiento representados por la fórmula II-a:



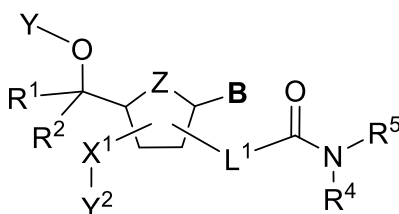
II-a.

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento de STAT3 comprende uno o más ácidos nucleicos conjugados con ligandos de direccionamiento representados por la fórmula II-b o II-c:



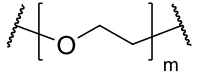
II-b



II-c

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

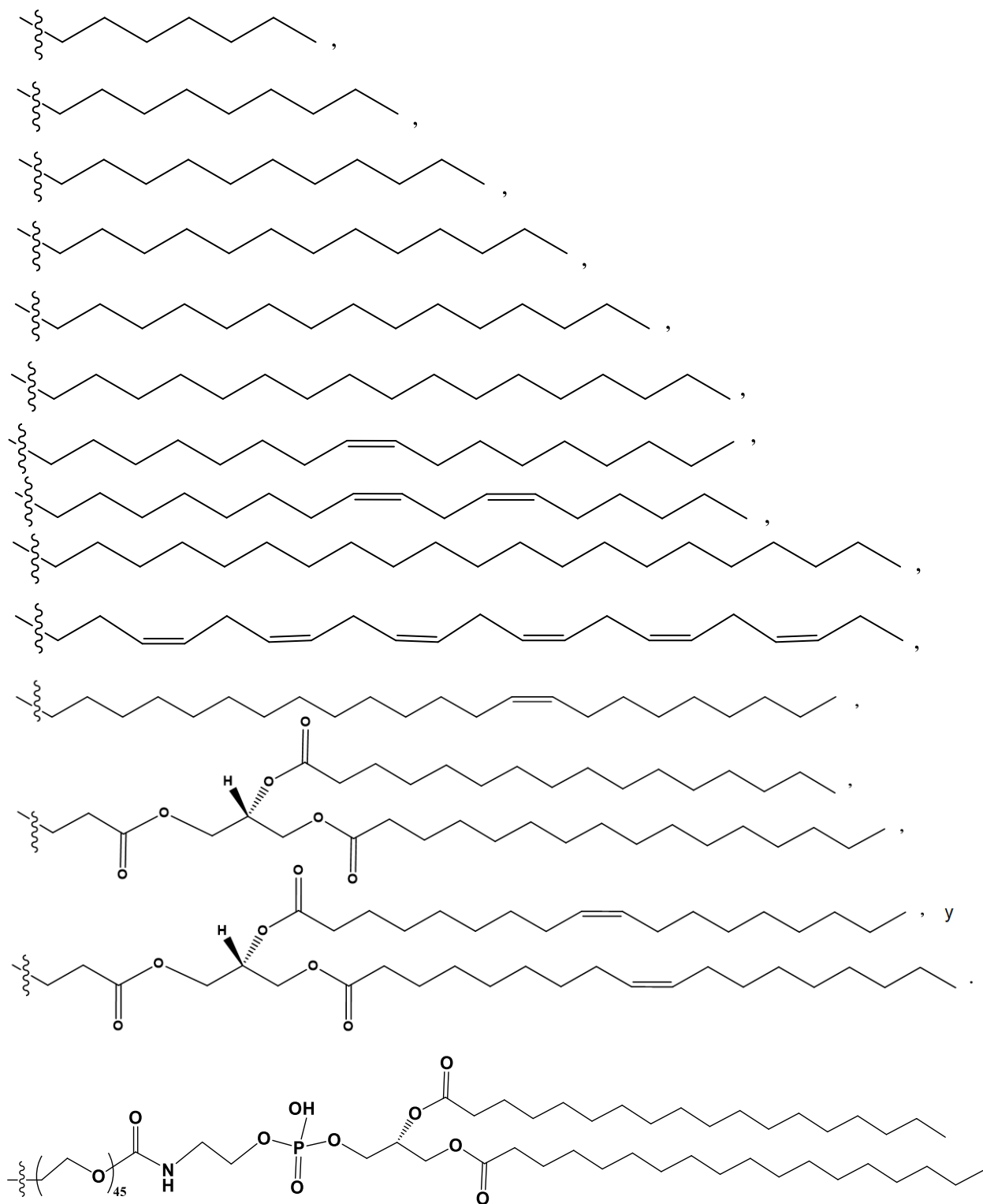
L^1 es un enlace covalente, una cadena hidrocarbonada C_{1-50} monovalente o bivalente saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -Cy-, -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -

C(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, -P(S)OR-, o  ;

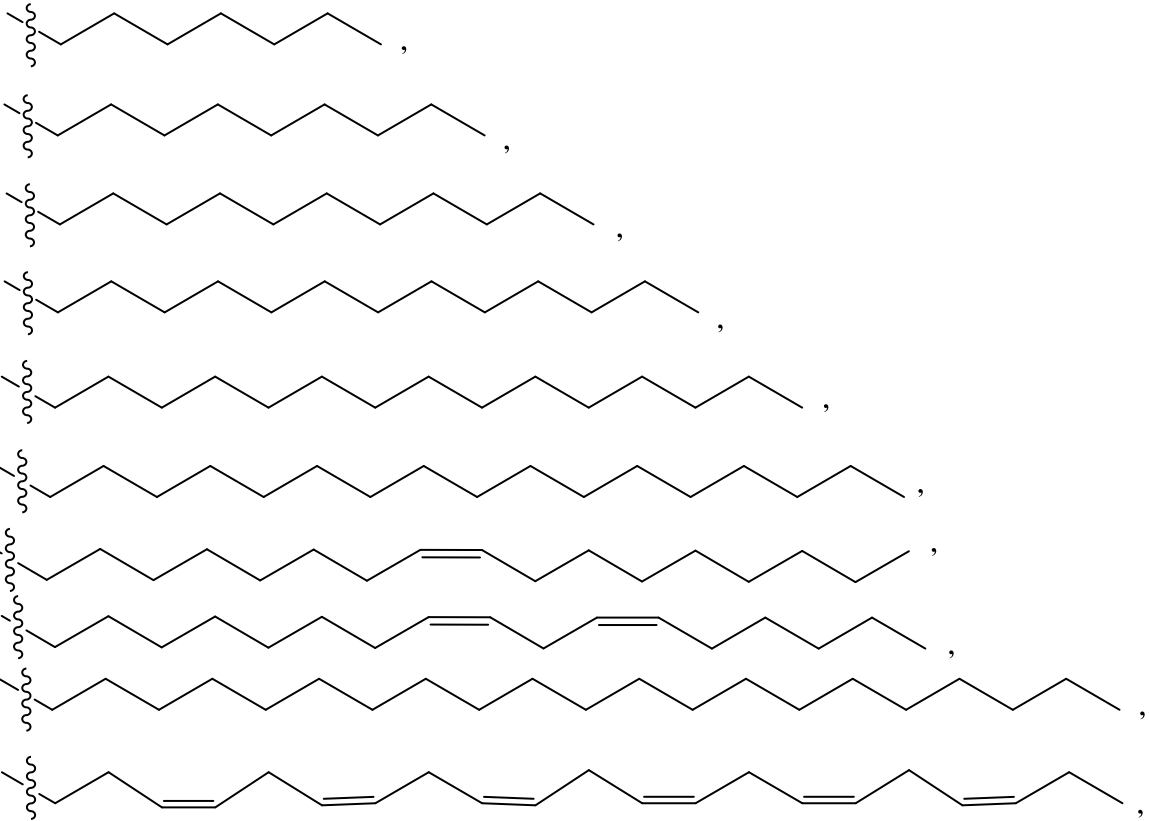
R^4 es hidrógeno, R^A o un grupo protector de aminas adecuado; y

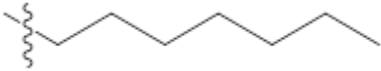
R^5 es adamantilo, o una cadena hidrocarbonada C_{1-50} saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -C(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, o -P(S)OR.

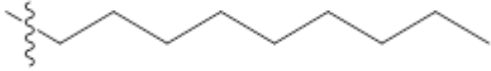
En algunas modalidades, R^5 se selecciona de

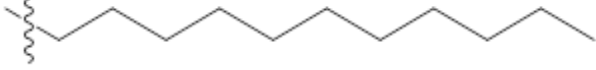


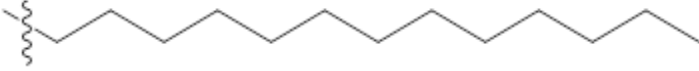
En algunas modalidades, R⁵ se selecciona de:

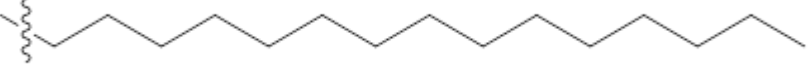


En algunas modalidades, R^5 es  . En algunas modalidades,

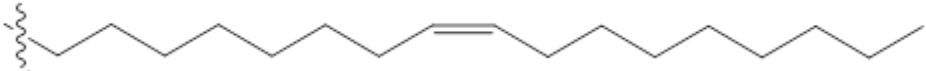
R^5 es  . En algunas modalidades, R^5 es

 . En algunas modalidades, R^5 es

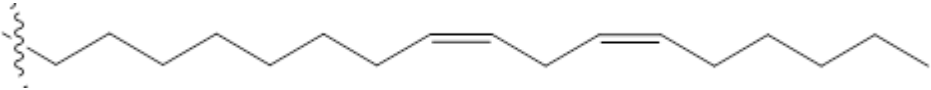
 . En algunas modalidades, R^5 es

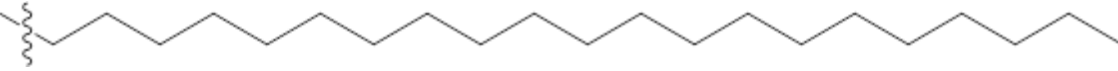
 . En algunas modalidades,

R^5 es  . En algunas

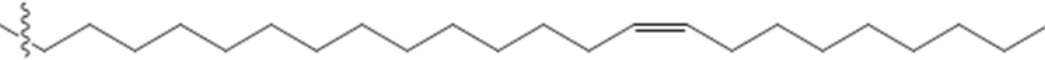
modalidades, R^5 es  . En algunas modalidades, R^5 es

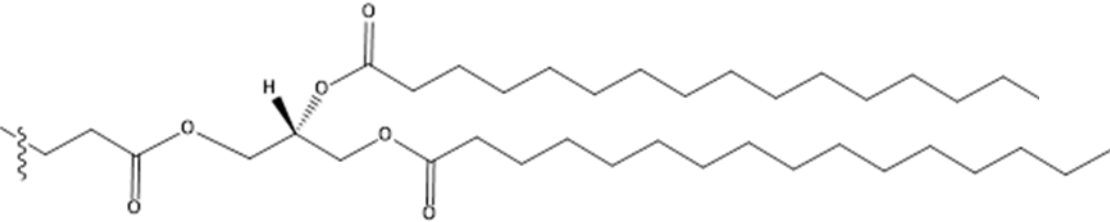
. En algunas modalidades, R^5 es

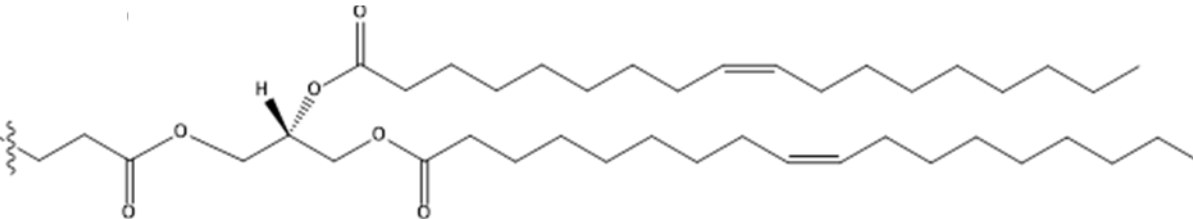
 . En algunas modalidades, R⁵ es

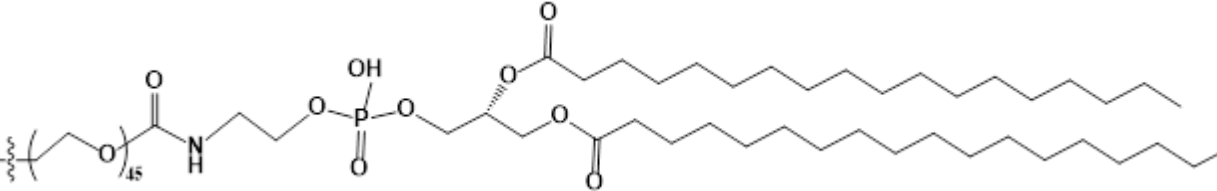
 . En algunas modalidades, R⁵ es

 . En algunas modalidades, R⁵ es

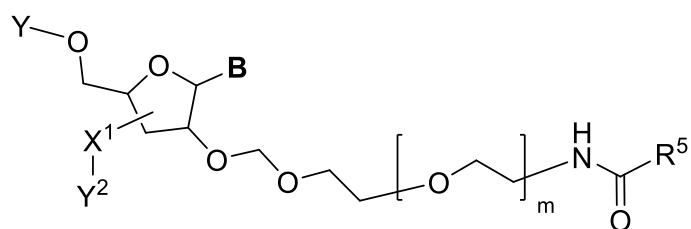
 . En algunas modalidades, R⁵ es

 . En algunas modalidades, R⁵ es

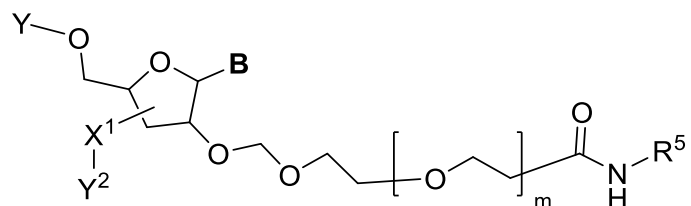
 . En algunas modalidades, R⁵ es

 .

En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento de STAT3 comprende uno o más ácidos nucleicos conjugados con ligandos de direccionamiento representados por la fórmula II-Ib o II-Ic:



II-Ib



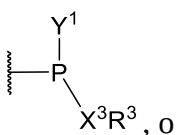
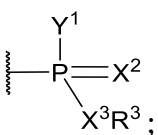
II-Ic

o una sal farmacéuticamente aceptable de este; en donde

B es una nucleobase o hidrógeno;

m es 1-50;

X¹ es -O-, o -S-;

Y es hidrógeno, , o ;

R³ es hidrógeno, o un grupo protector adecuado;

X² es O, o S;

X³ es -O-, -S-, o un enlace covalente;

Y¹ es un grupo de enlace que se une al extremo terminal 2' o 3' de un nucleósido, un nucleótido, o un oligonucleótido;

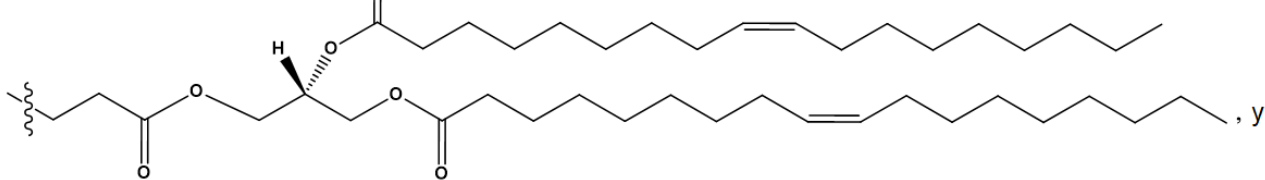
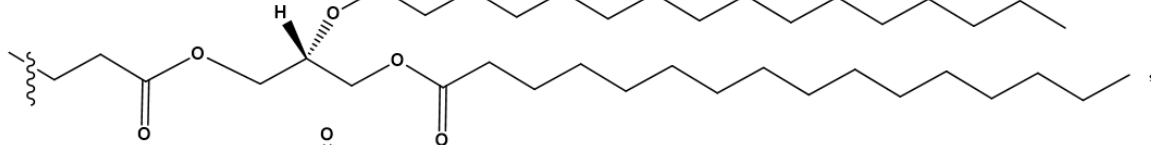
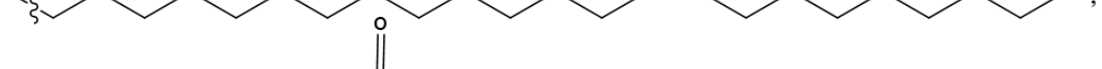
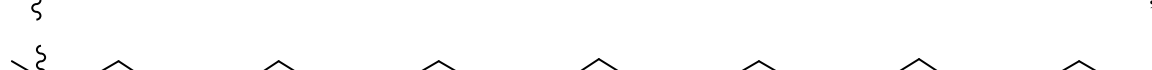
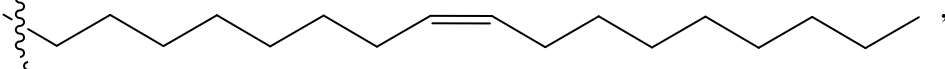
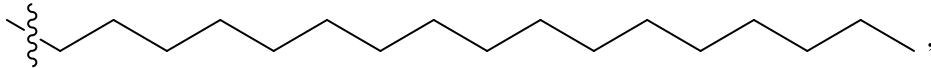
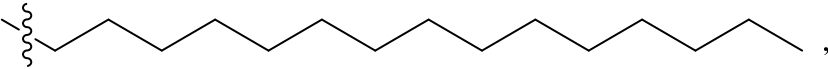
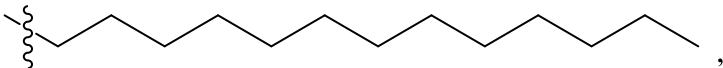
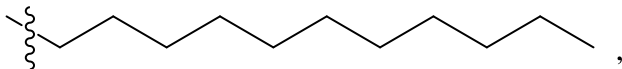
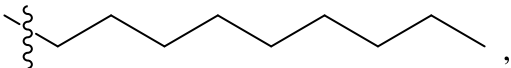
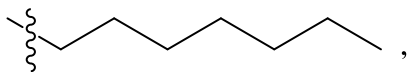
Y² es hidrógeno, un análogo de fosforamidita, un grupo de enlace internucleotídico que se une al extremo terminal 5' de un nucleósido, un nucleótido o un oligonucleótido, o un grupo de enlace que se une a un soporte sólido;

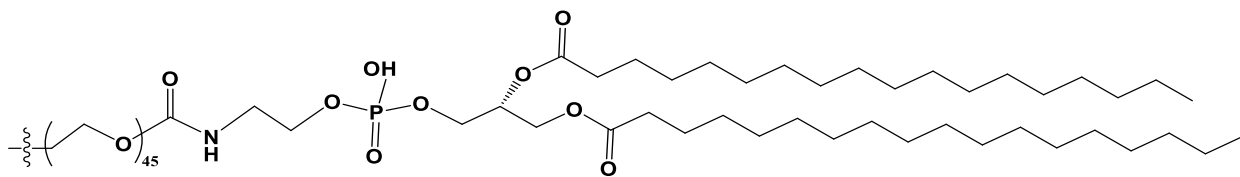
R⁵ es adamantilo, o una cadena hidrocarbonada C₁₋₅₀ saturada o insaturada, lineal o ramificada, en donde 0-10 unidades de metileno de la cadena hidrocarbonada se reemplazan independientemente por -O-, -C(O)NR-, -NR-, -S-, -C(O)-, -C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -P(O)OR-, o -P(S)OR-; y

R es hidrógeno, un grupo protector adecuado, o un grupo sustituido opcionalmente

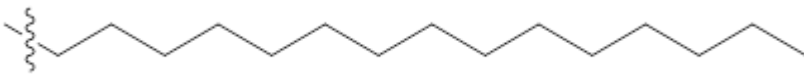
seleccionado de alifático C₁₋₆, fenilo, un heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre.

En algunas modalidades, R⁵ se selecciona de

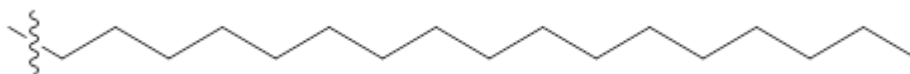




En algunas modalidades, R⁵ es



En algunas modalidades, R⁵ es



En algunas modalidades, la secuencia de nucleótidos del oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende 1-10 ligandos de direccionamiento. En algunas modalidades, la secuencia de nucleótidos comprende 1, 2 o 3 ligandos de direccionamiento. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 es una molécula bicatenaria. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 es una molécula de ARNi. En algunas modalidades, el oligonucleótido bicatenario de direccionamiento a STAT3 comprende una estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con cualquiera de los nucleótidos en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con el primer nucleótido de 5' a 3', en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con el segundo nucleótido de 5' a 3' en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con el tercer nucleótido de 5' a 3' en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con el cuarto nucleótido de 5' a 3' en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con uno, dos, tres o cuatro de los nucleótidos en la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el ligando se conjuga con tres de los nucleótidos en la estructura de tallo y lazo.

En algunas modalidades, el oligonucleótido bicatenario de direccionamiento a STAT3 comprende una estructura de tallo, en donde uno o más lípidos se conjugan a uno o más nucleótidos de la estructura de tallo y lazo. En algunas modalidades, el oligonucleótido bicatenario de direccionamiento a STAT3 comprende una estructura de tallo, en donde uno o más lípidos C16 se conjugan a uno o más nucleótidos de la estructura de tallo y lazo. En

algunas modalidades, el oligonucleótido bicatenario de direccionamiento a STAT3 comprende una estructura de tallo, en donde uno o más lípidos C18 se conjugan a uno o más nucleótidos de la estructura de tallo y lazo.

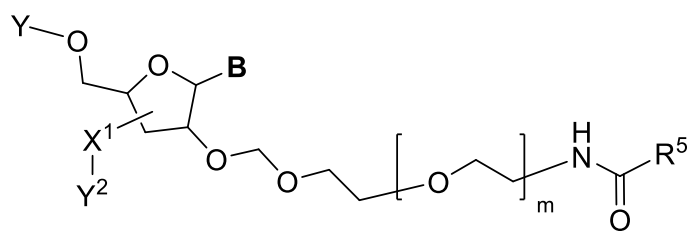
En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende una hebra sentido de 36 nucleótidos con posiciones numeradas 1-36 de 5' a 3'. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido conjugado a la posición 27 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido conjugado a la posición 28 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido conjugado a la posición 29 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido conjugado a la posición 30 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, una hebra sentido de 36 nucleótidos forma una estructura de tallo y lazo que tiene un lazo con las posiciones 27-30. En algunas modalidades, un lípido se conjuga con más de una posición del lazo (por ejemplo, las posiciones 27 y 28 de una hebra sentido de 36 nucleótidos).

En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido C16 conjugado a la posición 27 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido C16 conjugado a la posición 28 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido C16 conjugado a la posición 29 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido C16 conjugado a la posición 30 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, una hebra sentido de 36 nucleótidos forma una estructura de tallo y lazo que tiene un lazo con las posiciones 27-30. En algunas modalidades, un lípido de C16 se conjuga con más de una posición del lazo (por ejemplo, las posiciones 27 y 28 de una hebra sentido de 36 nucleótidos).

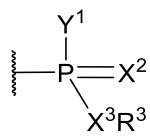
En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido C18 conjugado a la posición 27 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas

modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido C18 conjugado a la posición 28 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido C18 conjugado a la posición 29 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, el oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende un lípido C18 conjugado a la posición 30 de una hebra sentido de 36 nucleótidos. En algunas modalidades, una hebra sentido de 36 nucleótidos forma una estructura de tallo y lazo que tiene un lazo con las posiciones 27-30. En algunas modalidades, un lípido de C18 se conjuga con más de una posición del lazo (por ejemplo, las posiciones 27 y 28 de una hebra sentido de 36 nucleótidos).

En algunas modalidades, un oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende una hebra antisentido de 15 a 30 nucleótidos y una hebra sentido de 15 a 40 nucleótidos, en donde las hebras sentido y antisentido forman una región híbrida, en donde la hebra antisentido comprende una región de complementariedad con una secuencia diana del ARNm de *STAT3* expresada en una célula inmunitaria asociada con un microentorno tumoral, en donde la hebra sentido comprende en su extremo 3' una estructura de tallo y lazo que comprende un tetralazo que comprende 4 nucleósidos, en donde uno o más de los 4 nucleósidos se representan por la fórmula II-Ib:



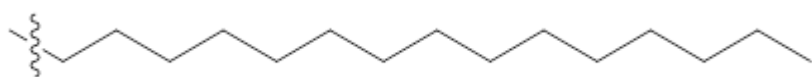
en donde B se selecciona de una nucleobase de adenina y guanina, y en donde R^5 es una cadena hidrocarbonada. En algunas modalidades, m es 1, X1 es O, Y2 es un grupo de enlace internucleotídico que se une al extremo terminal 5' de un nucleósido,



Y está representado por $\text{---P}(\text{Y}^1)(\text{X}^2)(\text{X}^3\text{R}^3)$, Y1 es un grupo de unión que se une al extremo terminal 2' o 3' de un nucleótido, X2 es O, X3 es O y R3 es H.

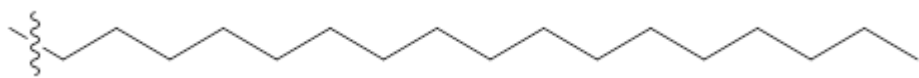
En algunas modalidades, la cadena hidrocarbonada es una cadena hidrocarbonada C8-C30. En algunas modalidades, la cadena hidrocarbonada es una cadena hidrocarbonada C16. En

algunas modalidades, la cadena hidrocarbonada C16 está representada por



. En algunas modalidades,

la cadena hidrocarbonada es una cadena hidrocarbonada C18. En algunas modalidades, la cadena hidrocarbonada C18 está representada por

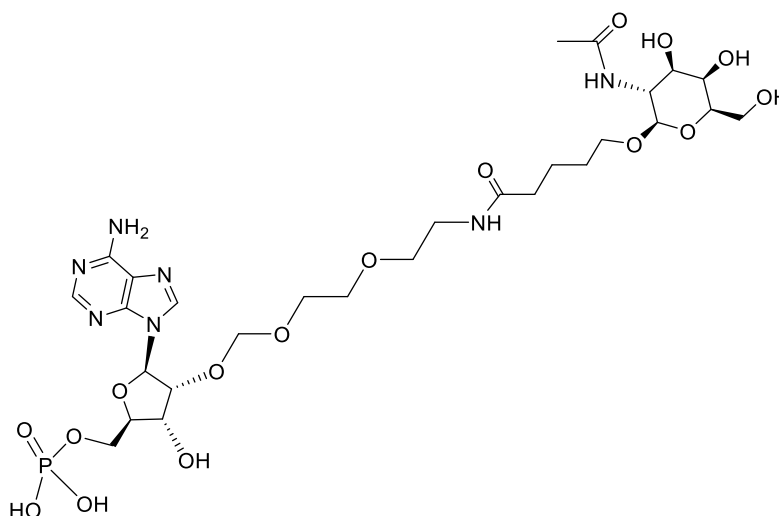


En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una hebra sentido que comprende una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 89-280, en donde la hebra sentido comprende un lípido de C18. En algunas modalidades, los 4 nucleósidos del tetralazo se enumeran 1-4 de 5' a 3' y la posición 1 está representada por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la posición 2 está representada por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la posición 3 está representada por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la posición 4 está representada por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la hebra sentido es de 36 nucleótidos con posiciones numeradas 1-36 de 5' a 3', en donde la estructura de tallo y lazo comprende nucleótidos en las posiciones 21-36, y en donde uno o más nucleósidos en las posiciones 27-30 están representados por la fórmula II-Ib. En algunas modalidades, la hebra antisentido es de 22 nucleótidos.

Oligonucleótidos de direccionamiento a STAT3 ilustrativos

En algunas modalidades, un oligonucleótido de direccionamiento a STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido como se expone en las Tablas 3, 4, 5, 10, 11, 12, 13 y 14, en donde el oligonucleótido comprende una estructura de tallo y lazo que tiene un tallo bicatenario de aproximadamente 2-6 pares de bases y un lazo de 3-4 nucleótidos, y en donde las cadenas sentido y antisentido comprenden el patrón de modificación que se expone en la Figura 1 o en el Ejemplo 12. En algunas modalidades, un oligonucleótido dirigido a STAT3 comprende una hebra sentido y una hebra antisentido como se expone en las Tablas 3, 4, 5, 10, 11, 12, 13, y 14, en donde el oligonucleótido comprende una estructura de tallo y lazo que tiene un tallo bicatenario de aproximadamente 2-6 pares de bases y un lazo de 3-4 nucleótidos, en donde las hebras sentido y antisentido comprenden el patrón de modificación que se expone en la Figura 1, y en donde la hebra antisentido se modifica con un oximetilfosfonato en el carbono 4' del nucleótido del extremo terminal 5'.

En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una estructura de tallo y lazo que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 86. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende un tallo bicatenario de 6 pares de bases y una estructura de tallo y lazo de 4 nucleótidos que comprende uno, dos, tres o cuatro nucleótidos conjugados con GalNAc. En algunas modalidades, el oligonucleótido conjugado a GalNAc es un GalNAc monovalente conjugado a un nucleótido de adenina, denominado [ademA-GalNAc] o 2'-aminodietoximetanol-adenina-GalNAc, como se representa más abajo:



En algunas modalidades, la estructura de tallo y lazo comprende un tallo bicatenario de 6 pares de bases y un lazo que comprende la secuencia de nucleótidos GAAA, en donde cada nucleótido de adenina es ademA-GalNAc.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 9 y 10, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 37 y 38, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 65 y 66, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 69 y 70, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 9 y 10, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 37 y 38, respectivamente;

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y una hebra antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que tiene secuencias de nucleótidos que se exponen en las SEQ ID NO: 87 y 68, respectivamente. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra

sentido y antisentido que tiene secuencias de nucleótidos que se exponen en las SEQ ID NO: 88 y 71, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 89-280. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 857-946. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 857-888. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 889-912. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 913-934. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 935-946.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 947-1036. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 947-978. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 979-1002. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1003-1024. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1025-1036.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 857-946 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 947-1036. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 857-888 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 947-978. En algunas modalidades, un

oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 889-912 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 979-1002. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 913-934 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO:1003-1024. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 935-946 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO:1025-1036.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1037-1126. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1037-1068. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO:1069-1092. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1093-1114. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO:1115-1126. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1127-1216. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1127-1158. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1159-1182. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO:1183-1204. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO:1205-1216.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3*

comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1037-1126 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1127-1216. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1037-1068 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1127-1182. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1069-1092 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1159-1182. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1093-1114 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1183-1204. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una secuencia de la hebra sentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1115-1126 y una hebra antisentido seleccionada de las SEQ ID NO: 1205-1216.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 857 y 947, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 858 y 948, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 859 y 949, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 860 y 950, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 862 y 952, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 867 y 957, respectivamente;
- (g) SEQ ID NO: 875 y 965, respectivamente; y
- (h) SEQ ID NO: 876 y 966, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;

- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 862 y 952, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 875 y 965, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 876 y 966, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente.

En algunas modalidades, la hebra sentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 862 y la hebra antisentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 952.

En algunas modalidades, la hebra sentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 875 y la hebra antisentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 965.

En algunas modalidades, la hebra sentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 876 y la hebra antisentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 966.

En algunas modalidades, la hebra sentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 920 y

la hebra antisentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1010.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1037 y 1127, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1038 y 1128, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 1039 y 1129, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 1040 y 1130, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 1042 y 1132, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 1047 y 1137, respectivamente;
- (g) SEQ ID NO: 1055 y 1145, respectivamente; y
- (h) SEQ ID NO: 1056 y 1146, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1081 y 1171, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1090 y 1180, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 1079 y 1169, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 1076 y 1166, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 1072 y 1162, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 1070 y 1160, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 1069 y 1159, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1120 y 1210, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1117 y 1207, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 1119 y 1209, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1095 y 1185, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1104 y 1194, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 1093 y 1183, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 1100 y 1190, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1042 y 1132, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1055 y 1145, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 1056 y 1146, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 1100 y 1190, respectivamente.

En algunas modalidades, la hebra sentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1042 y la hebra antisentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1132.

En algunas modalidades, la hebra sentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1055 y la hebra antisentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1145.

En algunas modalidades, la hebra sentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1056 y la hebra antisentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1146.

En algunas modalidades, la hebra sentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1100 y la hebra antisentido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1190.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido que comprende secuencias de nucleótidos seleccionadas de:

- (a) SEQ ID NO: 1042 y 1225, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 1055 y 1226, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 1056 y 1227, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 1100 y 1228, respectivamente.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* descrito en la presente descripción comprende efectos mínimos fuera de la diana. Por ejemplo, en algunas modalidades, un oligonucleótido descrito en la presente descripción reduce la expresión de *STAT3* y no reduce la expresión de *STAT1* ni reduce la expresión de *STAT1* menos que la expresión de *STAT3*. En algunas modalidades, el oligonucleótido

comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos que se expone en la SEQ ID NO: 862 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos que se expone en la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido reduce la expresión de STAT3 y no reduce la expresión de STAT1 ni reduce la expresión de STAT1 menos que la expresión de STAT3. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos que se expone en la SEQ ID NO: 1042 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos que se expone en la SEQ ID NO: 1132, en donde el oligonucleótido reduce la expresión de STAT3 y no reduce la expresión de STAT1 ni reduce la expresión de STAT1 menos que la expresión de STAT3. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos que se expone en la SEQ ID NO: 875 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos que se expone en la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido reduce la expresión de STAT3 y no reduce la expresión de STAT1 ni reduce la expresión de STAT1 menos que la expresión de STAT3. En algunas modalidades, el oligonucleótido comprende una hebra sentido que comprende la secuencia de nucleótidos que se expone en la SEQ ID NO: 1055 y una hebra antisentido que comprende la secuencia de nucleótidos que se expone en la SEQ ID NO: 1145, en donde el oligonucleótido reduce la expresión de STAT3 y no reduce la expresión de STAT1 ni reduce la expresión de STAT1 menos que la expresión de STAT3.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* descrito en la presente descripción es un oligonucleótido de reactividad cruzada en las especies. En algunas modalidades, un oligonucleótido descrito en la presente descripción es capaz de reducir la expresión del ARNm de *STAT3* de al menos dos especies diferentes. En algunas modalidades, un oligonucleótido descrito en la presente descripción es capaz de reducir la expresión del ARNm de *STAT3* de al menos dos especies diferentes, pero no tiene reactividad cruzada con ARNm diferentes de *STAT3* (por ejemplo, *STAT1*). En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* tiene reactividad cruzada entre al menos dos especies. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión de *STAT3* tiene reactividad cruzada con el ARNm de *STAT3* humano, de primate no humano y de ratón. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* tiene reactividad cruzada

con el ARNm de *STAT3* humano y de ratón. En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* tiene reactividad cruzada con el ARNm de *STAT3* de humano y de primate no humano.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 50 % a al menos 75 % en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies). En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 % o al menos 75 % en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies). En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % en humanos, primates no humanos y ratón (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 50 % a al menos 75 % en humanos y primates no humanos (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies). En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 % o al menos 75 % en humanos y primates no humanos (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies). En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % en humanos y primates no humanos (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3*

reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 50 % a al menos 75 % en humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies). En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 % o al menos 75 % en humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies). En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % en humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies). En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3*

comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 862 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y primates no humanos (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada entre especies).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 875 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 876 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 966, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 920 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 1010, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 857 y 947, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 858 y 948, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 859 y 949, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 860 y 950, respectivamente;

- (e) SEQ ID NO: 862 y 952, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 867 y 957, respectivamente;
- (g) SEQ ID NO: 875 y 965, respectivamente; y
- (h) SEQ ID NO: 876 y 966, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 862 y 952, respectivamente;

- (b) SEQ ID NO: 875 y 965, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 876 y 966, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 862 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 875 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 876 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 966, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 920 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 1010, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 857 y 947, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 858 y 948, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 859 y 949, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 860 y 950, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 862 y 952, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 867 y 957, respectivamente;
- (g) SEQ ID NO: 875 y 965, respectivamente; y
- (h) SEQ ID NO: 876 y 966, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 862 y 952, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 875 y 965, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 876 y 966, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3*

comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 862 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 875 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 876 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 966, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 920 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 1010, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 857 y 947, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 858 y 948, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 859 y 949, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 860 y 950, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 862 y 952, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 867 y 957, respectivamente;
- (g) SEQ ID NO: 875 y 965, respectivamente; y
- (h) SEQ ID NO: 876 y 966, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;

- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 862 y 952, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 875 y 965, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 876 y 966, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 862 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 875 y la secuencia de la

hebra antisentido de la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 876 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 966, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 920 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 1010, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie) en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie) en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3*

comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 862 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y primates no humanos (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie) en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 875 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 876 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 966, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 920 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 1010, en donde el oligonucleótido reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y

(g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

(a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;

(b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y

(c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

(a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;

(b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;

(c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y

(d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 862 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y primates no humanos (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 875 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3*

comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 876 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 966, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 920 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 1010, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;

(c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y

(d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 862 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y primates no humanos (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie).

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 875 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido se conjuga con C18 en el lípido de hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 876 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 966, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 920 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 1010, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

(a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;

(b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;

(c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;

(d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;

(e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;

(f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y

(g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie) en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie) en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y
- (d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 862 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y primates no humanos (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie) en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 875 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 876 y la secuencia de la

hebra antisentido de la SEQ ID NO: 966, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 920 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 1010, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 901 y 991, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 910 y 1000, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 899 y 989, respectivamente;
- (d) SEQ ID NO: 896 y 986, respectivamente;
- (e) SEQ ID NO: 892 y 982, respectivamente;
- (f) SEQ ID NO: 890 y 980, respectivamente; y
- (g) SEQ ID NO: 889 y 979, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos, primates no humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie) en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 940 y 1030, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 937 y 1027, respectivamente; y
- (c) SEQ ID NO: 939 y 1029, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y ratones (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie) en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende una hebra sentido y antisentido seleccionada de:

- (a) SEQ ID NO: 915 y 1005, respectivamente;
- (b) SEQ ID NO: 924 y 1014, respectivamente;
- (c) SEQ ID NO: 913 y 1003, respectivamente; y

(d) SEQ ID NO: 920 y 1010, respectivamente,

en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 862 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 952, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos y primates no humanos (es decir, el oligonucleótido es un oligonucleótido que tiene reactividad cruzada de especie) en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 875 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 965, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 876 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 966, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

En algunas modalidades, un oligonucleótido para reducir la expresión del ARNm de *STAT3* comprende la secuencia de la hebra sentido de la SEQ ID NO: 920 y la secuencia de la hebra antisentido de la SEQ ID NO: 1010, en donde el oligonucleótido se conjuga con un lípido de C18 en la hebra sentido y reduce el ARNm de *STAT3* en humanos en al menos 75 %.

Formulaciones

Se han desarrollado varias formulaciones para facilitar el uso de oligonucleótidos. Por ejemplo, los oligonucleótidos pueden suministrarse a un sujeto o a un entorno celular mediante el uso de una formulación que minimice la degradación, facilite el suministro y/o la captación, o proporcione otra propiedad beneficiosa a los oligonucleótidos en la formulación. En algunas modalidades, se formula un oligonucleótido en soluciones tampón tales como soluciones salinas tamponadas con fosfato, liposomas, estructuras micelares y

cápsidas.

Pueden usarse formulaciones de oligonucleótidos con lípidos catiónicos para facilitar la transfección de los oligonucleótidos en células. Por ejemplo, pueden usarse lípidos catiónicos, tales como lipofectina, derivados catiónicos de glicerol, y moléculas policationicas (por ejemplo, polilisina. Los lípidos adecuados incluyen oligofectamina, lipofectamina (Life Technologies), NC388 (Ribozyme Pharmaceuticals, Inc., Boulder, Colo.) o FuGene 6 (Roche), todos los cuales pueden usarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

En consecuencia, en algunas modalidades, una formulación comprende una nanopartícula lipídica. En algunas modalidades, un excipiente comprende un liposoma, un lípido, un complejo lipídico, una microesfera, una micropartícula, una nanoesfera o una nanopartícula, o puede formularse de cualquier otra manera para su administración a las células, tejidos, órganos o el cuerpo de un sujeto que lo necesite (ver, por ejemplo, Remington: THE SCIENCE y PRACTICE OF PHARMACY, 22da edición, Pharmaceutical Press, 2013).

En algunas modalidades, las formulaciones en la presente descripción comprenden un excipiente. En algunas modalidades, un excipiente confiere a una composición estabilidad mejorada, absorción mejorada, solubilidad mejorada y/o mejora terapéutica del ingrediente activo. En algunas modalidades, un excipiente es un agente amortiguador (por ejemplo, citrato de sodio, fosfato de sodio, una base tris o hidróxido de sodio) o un vehículo (por ejemplo, una solución amortiguada, vaselina, sulfóxido de dimetilo o aceite mineral). En algunas modalidades, un oligonucleótido se liofiliza para prolongar su vida útil y después se convierte en una solución antes de usar (por ejemplo, administración a un sujeto). En consecuencia, un excipiente en una composición que comprende cualquiera de los oligonucleótidos descritos en la presente descripción puede ser un lioprotector (por ejemplo, manitol, lactosa, polietilenglicol o polivinilpirrolidona) o un modificador de temperatura de colapso (por ejemplo, dextrano, Ficoll™ o gelatina).

En algunas modalidades, una composición farmacéutica se formula para que sea compatible con su vía de administración prevista. Ejemplos de vías de administración incluyen administración parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intradérmica, subcutánea), oral (por ejemplo, inhalación), transdérmica (por ejemplo,

tópica), transmucosal y rectal.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (que son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los portadores adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). El portador puede ser un solvente o un medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), y mezclas adecuadas de estos. En muchos casos, será preferente incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, cloruro de sodio. Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar mediante la incorporación de los oligonucleótidos en una cantidad requerida en un solvente seleccionado con uno o una combinación de los ingredientes mencionados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración.

En algunas modalidades, una composición puede contener al menos aproximadamente un 0.1 % del agente terapéutico o más, aunque el porcentaje del(de los) ingrediente(s) activo(s) puede estar entre aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 80 % o más del peso o volumen de la composición total. Factores tales como la solubilidad, la biodisponibilidad, la semivida biológica, la vía de administración, la vida útil del producto, así como también otras consideraciones farmacológicas serán contempladas por un experto en la técnica de preparar tales formulaciones farmacéuticas y, como tal, puede ser conveniente una variedad de dosis y regímenes de tratamiento.

Aunque varias modalidades se dirigen al suministro dirigido al hígado de cualquiera de los oligonucleótidos en la presente descripción, también se contempla el direccionamiento a otros tejidos.

Métodos de uso

Reducción de la expresión de STAT3 en las células

La descripción proporciona los métodos para poner en contacto o suministrar a una célula o población de células una cantidad eficaz de un cualquiera de los oligonucleótidos de la presente descripción con el propósito de reducir la expresión de STAT3. Los métodos

pueden incluir las etapas descritas en la presente descripción, y estas pueden llevarse a cabo, pero no necesariamente, en la secuencia como se describe. Sin embargo, otras secuencias también son concebibles. Además, el módulo de etapas individuales o múltiples se lleva a cabo en paralelo y/o solapado en el tiempo y/o individualmente o en etapas múltiples repetidas. Además, los métodos pueden incluir etapas adicionales no especificadas.

Los métodos en la presente descripción son útiles en cualquier tipo de célula adecuada. En algunas modalidades, una célula es cualquier célula que expresa ARNm (por ejemplo, hepatocitos, macrófagos, células derivadas de monocitos, células cancerosas de próstata, células del cerebro, tejido endocrino, médula ósea, ganglios linfáticos, pulmón, vesícula biliar, hígado, duodeno, intestino delgado, páncreas, riñón, tracto gastrointestinal, vejiga, tejido adiposo y tejidos blandos y piel). En algunas modalidades, la célula es una célula primaria que se obtiene de un sujeto. En algunas modalidades, la célula primaria ha experimentado un número limitado de pasajes de manera que la célula mantiene sustancialmente sus propiedades fenotípicas naturales. En algunas modalidades, una célula a la que se suministra el oligonucleótido es *ex vivo* o *in vitro* (es decir, puede suministrarse a una célula en cultivo o a un organismo en el que reside la célula).

En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción se suministran mediante el uso de métodos apropiados de suministro de ácido nucleico, que incluyen, pero no se limita a, inyección de una solución que contiene los oligonucleótidos, bombardeo con partículas recubiertas por los oligonucleótidos, exposición de la célula o población de células a una solución que contiene los oligonucleótidos, o electroporación de membranas celulares en presencia de los oligonucleótidos. Otros métodos para suministrar oligonucleótidos a las células pueden usarse, tal como el transporte de portadores mediado por lípidos, el transporte mediado por productos químicos y la transfección de liposomas catiónicos tal como el fosfato de calcio y otros.

En algunas modalidades, la reducción de la expresión de STAT3 puede determinarse mediante un ensayo o técnica apropiados para evaluar una o más propiedades o características de una célula o población de células asociadas con la expresión de STAT3 (por ejemplo, mediante el uso de un biomarcador de expresión de STAT3) o mediante un ensayo o técnica que evalúa moléculas que son directamente indicativas de la expresión de

STAT3 (por ejemplo, ARNm de *STAT3* o proteína STAT3). En algunas modalidades, la medida en que un oligonucleótido en la presente descripción reduce la expresión de STAT3 se evalúa mediante la comparación de la expresión de STAT3 en una célula o población de células en contacto con el oligonucleótido con respecto a un control apropiado (por ejemplo, una célula o población de células apropiadas que no se pusieron en contacto con el oligonucleótido o que se pusieron en contacto con un oligonucleótido de control). En algunas modalidades, un nivel de control apropiado de la expresión de ARNm en proteína, después del suministro de una molécula de ARNi puede ser un nivel o valor predeterminado, de manera que no es necesario medir un nivel de control cada vez. El nivel o valor predeterminado puede tomar una variedad de formas. En algunas modalidades, un nivel o valor predeterminado puede ser un valor de corte único, tal como una mediana o una media.

En algunas modalidades, la administración de un oligonucleótido en la presente descripción resulta en una reducción en la expresión de STAT3 en una célula o población de células. En algunas modalidades, la reducción en STAT3 es o en la expresión de STAT3 es aproximadamente 1 % o menor, aproximadamente 5 % o menor, aproximadamente 10 % o menor, aproximadamente 15 % o menor, aproximadamente 20 % o menor, aproximadamente 25 % o menor, aproximadamente 30 % o menor, aproximadamente 35 % o menor, aproximadamente 40 % o menor, aproximadamente 45 % o menor, aproximadamente 50 % o menor, aproximadamente 55 % o menor, aproximadamente 60 % o menor, aproximadamente 70 % o menor, aproximadamente 80 % o menor, o aproximadamente 90 % o menor cuando se compara con un nivel de control de la expresión de ARNm. El nivel de control apropiado puede ser un nivel de expresión de ARNm y/o traducción de proteína en una célula o población de células que no se ha puesto en contacto con un oligonucleótido de la presente descripción. En algunas modalidades, el efecto del suministro de un oligonucleótido a una célula de acuerdo con un método de la presente descripción se evalúa después de un período de tiempo finito. Por ejemplo, los niveles de ARNm pueden analizarse en una célula al menos aproximadamente 8 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 24 horas; o al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o incluso hasta 14 días después de la introducción del oligonucleótido en la célula.

En algunas modalidades, un oligonucleótido se suministra en forma de un transgén que es modificado genéticamente para expresar en una célula el oligonucleótido o las hebras que comprenden el oligonucleótido (por ejemplo, sus hebras sentido y antisentido). En algunas modalidades, un oligonucleótido se suministra mediante el uso de un transgén modificado genéticamente para expresar cualquier oligonucleótido que se describe en la presente descripción. Los transgenes pueden suministrarse mediante el uso de vectores virales (por ejemplo, adenovirus, retrovirus, virus vaccinia, poxvirus, virus adenoasociados o virus del herpes simple) o vectores no virales (por ejemplo, plásmidos o ARNm sintéticos). En algunas modalidades, los transgenes pueden inyectarse directamente a un sujeto.

Uso médico

La descripción también proporciona oligonucleótidos para usar, o adaptables para usar, para tratar un sujeto (por ejemplo, un humano que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3) que se beneficiaría de la reducción de la expresión de STAT3. En algunos aspectos, la descripción proporciona oligonucleótidos para usar, o adaptados para usar, para tratar a un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3. La descripción también proporciona oligonucleótidos para usar, o adaptables para usar, en la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para tratar una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3. En algunas modalidades, los oligonucleótidos para usar, o adaptables para usar, se dirigen al ARNm de *STAT3* y reducen la expresión de STAT3 (por ejemplo, mediante la vía de ARNi). En algunas modalidades, los oligonucleótidos para usar, o adaptables para usar, se dirigen al ARNm de STAT3 y reducen la cantidad o el nivel del ARNm de *STAT3* o ARNm de STAT3, proteína STAT3 y/o actividad de STAT3.

Además, los métodos más abajo pueden incluir seleccionar un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociada con la expresión de STAT3 o que está predispuesto a esta. En algunos casos, los métodos pueden incluir seleccionar a un individuo que tiene un marcador para una enfermedad asociada con la expresión de STAT3 tal como cáncer u otros trastornos linfoproliferativos crónicos.

Igualmente, y como se detalla más abajo, los métodos pueden incluir etapas tales como medir u obtener un valor de referencia para un marcador de la expresión de STAT3 y después comparar dicho valor obtenido con uno o más valores de referencia o valores

obtenidos después de administrar el oligonucleótido para evaluar la eficacia del tratamiento.

Métodos de tratamiento

La descripción también proporciona métodos para tratar a un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o está en riesgo de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección con un oligonucleótido de la presente descripción. En algunos aspectos, la descripción proporciona métodos para tratar o atenuar el inicio o la progresión de una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3 mediante el uso de los oligonucleótidos de la presente descripción. En otros aspectos, la descripción proporciona métodos para lograr uno o más beneficios terapéuticos en un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3 mediante el uso de los oligonucleótidos de la presente descripción. En algunas modalidades de los métodos en la presente descripción, el sujeto se trata mediante la administración de una cantidad con eficacia terapéutica de uno cualquiera o más de los oligonucleótidos de la presente descripción. En algunas modalidades, el tratamiento comprende reducir la expresión de STAT3. En algunas modalidades, el sujeto se trata terapéuticamente. En algunas modalidades, el sujeto se trata profilácticamente.

En algunas modalidades de los métodos de la presente descripción, uno o más oligonucleótidos de la presente descripción o una composición farmacéutica que comprende uno o más oligonucleótidos, se administra a un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3 de manera que la expresión de STAT3 se reduce en el sujeto, de esta manera se trata al sujeto. En algunas modalidades, una cantidad o nivel del ARNm de *STAT3* se reduce en el sujeto. En algunas modalidades, una cantidad o nivel de STAT3 y/o la proteína se reduce en el sujeto

En algunas modalidades de los métodos en la presente descripción, un oligonucleótido en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido, se administra a un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3 de manera que la expresión de STAT3 se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %,

aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la expresión de *STAT3* antes de la administración de uno o más oligonucleótido o composición farmacéutica. En algunas modalidades, la expresión de *STAT3* se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la expresión de *STAT3* en un sujeto (por ejemplo, un sujeto de referencia o de control) que no recibe el oligonucleótido u oligonucleótidos o la composición farmacéutica o que recibe un oligonucleótido u oligonucleótidos, composición farmacéutica o tratamiento de control.

En algunas modalidades de los métodos de la presente descripción, un oligonucleótido u oligonucleótidos en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido u oligonucleótidos, se administra a un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de *STAT3* de manera que una cantidad o nivel del ARNm de *STAT3* se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la cantidad o el nivel del ARNm de *STAT3* antes de la administración del oligonucleótido o composición farmacéutica. En algunas modalidades, una cantidad o nivel del ARNm de *STAT3* se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con una cantidad o nivel del ARNm de *STAT3* en un sujeto (por ejemplo, un sujeto de referencia o de control) que no

recibe el oligonucleótido u oligonucleótidos o la composición farmacéutica o que recibe un oligonucleótido u oligonucleótidos, composición farmacéutica o tratamiento de control.

En algunas modalidades de los métodos de la presente descripción, un oligonucleótido u oligonucleótidos en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido u oligonucleótidos, se administra a un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3 de manera que una cantidad o nivel de la proteína de STAT3 se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la cantidad o el nivel de proteína de STAT3 antes de la administración del oligonucleótido o composición farmacéutica. En algunas modalidades, una cantidad o nivel de proteína de STAT3 se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con una cantidad o nivel de proteína de STAT3 en un sujeto (por ejemplo, un sujeto de referencia o de control) que no recibe el oligonucleótido u oligonucleótidos o la composición farmacéutica o que recibe un oligonucleótido, oligonucleótidos o composición farmacéutica o el tratamiento de control.

En algunas modalidades de los métodos de la presente descripción, un oligonucleótido u oligonucleótidos en la presente descripción, o una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido u oligonucleótidos, se administra a un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o afección asociados con STAT3 de manera que una cantidad o nivel de la actividad/expresión de STAT3 se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, 80 %,

aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con la cantidad o el nivel de la actividad de STAT3 antes de la administración del oligonucleótido o composición farmacéutica. En algunas modalidades, una cantidad o nivel de la actividad de STAT3 se reduce en el sujeto en al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 99 % o más del 99 % cuando se compara con una cantidad o nivel de la actividad de STAT3 en un sujeto (por ejemplo, un sujeto de referencia o de control) que no recibe el oligonucleótido o la composición farmacéutica o que recibe un oligonucleótido, composición farmacéutica o tratamiento de control.

Debido a su alta especificidad, los oligonucleótidos en la presente descripción se dirigen específicamente al ARNm de genes diana de células y tejidos enfermos. En la prevención de la enfermedad, el gen diana puede ser uno que se requiera para la iniciación o el mantenimiento de la enfermedad o que se haya identificado como asociado con un mayor riesgo de contraer la enfermedad. En el tratamiento de la enfermedad, el oligonucleótido puede ponerse en contacto con las células o tejido que presentan la enfermedad. Por ejemplo, un oligonucleótido sustancialmente idéntico a la totalidad o parte de un gen de tipo silvestre (es decir, nativo) o mutado que se asocia con un trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3 puede ponerse en contacto o introducirse en una célula o tipo de tejido de interés tal como un hepatocito u otra célula hepática.

En algunas modalidades, el gen diana puede ser un gen diana de cualquier mamífero, tal como una diana humana. Cualquier gen puede silenciarse de acuerdo con el método que se describe en la presente descripción.

Los métodos que se describen en la presente descripción típicamente implican administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un oligonucleótido u oligonucleótidos, es decir, una cantidad capaz de producir o un resultado terapéutico conveniente. Una cantidad terapéuticamente aceptable puede ser una cantidad que puede tratar terapéuticamente una enfermedad o trastorno. La dosificación adecuada para cualquier sujeto dependerá de

determinados factores, que incluyen la talla del sujeto, el área superficial corporal, la edad, la composición particular que se va a administrar, el(los) ingrediente(s) activo(s) en la composición, el tiempo y la vía de administración, el estado general de salud, y otros fármacos que se administran simultáneamente.

En algunas modalidades, a un sujeto se le administra una cualquiera de las composiciones de la presente descripción ya sea por vía enteral (por ejemplo, por vía oral, por sonda de alimentación gástrica, por sonda de alimentación duodenal, mediante gastrostomía o por vía rectal), por vía parenteral (por ejemplo, inyección subcutánea, inyección o infusión intravenosa, inyección o infusión intraarterial, infusión intraósea, inyección intramuscular, inyección intracerebral, inyección intracerebroventricular, intratecal), por vía tópica (por ejemplo, epicutánea, inhalatoria, mediante gotas para los ojos, o a través de una membrana mucosa), o por inyección directa en un órgano diana (por ejemplo, el hígado de un sujeto). Típicamente, los oligonucleótidos en la presente descripción se administran por vía intravenosa o subcutánea.

Como un conjunto de ejemplos no limitante, el oligonucleótido de la presente descripción se administraría típicamente trimestralmente (una vez cada tres meses), bimensualmente (una vez cada dos meses), mensual o semanalmente. Por ejemplo, los oligonucleótidos pueden administrarse cada semana o a intervalo de dos o tres semanas. Alternativamente, los oligonucleótidos pueden administrarse diariamente. En algunas modalidades, a un sujeto se le administran una o más dosis de carga del oligonucleótido seguidas de una o más dosis de mantenimiento del oligonucleótido.

En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción se administran solos o en combinación. En algunas modalidades, los oligonucleótidos en la presente descripción se administran en combinación simultáneamente, secuencialmente (en cualquier orden) o intermitentemente. Por ejemplo, pueden coadministrarse simultáneamente dos oligonucleótidos. Alternativamente, se puede administrar un oligonucleótido seguido de la administración de un segundo oligonucleótido cualquier periodo de tiempo después (por ejemplo, una hora, un día, una semana o un mes).

En algunas modalidades, el sujeto a tratar es un sujeto humano o primate no humano u otro sujeto mamífero. Otros sujetos ilustrativos incluyen animales domesticados tales como perros y gatos; ganado tal como caballos, vacas, cerdos, ovejas, cabras y pollos; y animales

tales como ratones, ratas, cobayos y hámsteres.

Tratamiento de combinación

En algunas modalidades, los oligonucleótidos descritos en la presente descripción se usan en combinación con al menos una composición o agente terapéutico adicional. En algunos aspectos, la composición o agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en: una quimioterapia, un tratamiento anticanceroso dirigido, un fármaco oncolítico, un agente citotóxico, una terapia basada en el sistema inmunitario, una citocina, un procedimiento quirúrgico, un procedimiento de radiación, un activador de una molécula coestimuladora, un inhibidor de una molécula inhibidora, una vacuna o una inmunoterapia celular, o sus combinaciones. En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico se dirige a TGFB, CXCR2, CCR2, ARG1, PTGS2, SOCS1 o PD-L1. En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico se dirige a TGFB. En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico se dirige a CXCR2. En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico se dirige a CCR2. En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico se dirige a ARG1. En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico se dirige a PTGS2. En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico se dirige a SOCS1. En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico se dirige a PD-L1. En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico que se dirige a cualquiera de las dianas anteriores, es un oligonucleótido (por ejemplo, ARN_ibc). En algunas modalidades, la composición o agente terapéutico que se dirige a cualquiera de las dianas anteriores, es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este.

Kits

En algunas modalidades, la descripción proporciona un kit que comprende un oligonucleótido en la presente descripción e instrucciones para el uso. En algunas modalidades, el kit comprende un oligonucleótido en la presente descripción y un prospecto que contiene instrucciones para el uso del kit y/o cualquier componente de este. En algunas modalidades, el kit comprende, en un recipiente adecuado, un oligonucleótido en la presente descripción, uno o más controles y varios tampones, reactivos, enzimas y otros ingredientes estándar bien conocidos en la técnica. En algunas modalidades, el recipiente comprende al menos un frasco, pocillo, tubo de ensayo, matraz, botella, jeringa u otro

medio recipiente, en el que se coloca el oligonucleótido y, en algunos casos, se divide adecuadamente en alícuotas. En algunas modalidades en las que se proporciona un componente adicional, el kit contiene recipientes adicionales en los que se coloca este componente. Los kits también pueden incluir un medio para contener el oligonucleótido y cualquier otro reactivo en confinamiento cerrado para la venta comercial. Dichos recipientes pueden incluir recipientes de plástico moldeados por inyección o soplado en los que se retienen los frascos deseados. Los recipientes y/o kits pueden incluir un etiquetado con instrucciones de uso y/o advertencias.

En algunas modalidades, un kit comprende un oligonucleótido en la presente descripción y un portador farmacéuticamente aceptable, o una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido e instrucciones para tratar o retrasar la progresión de una enfermedad, trastorno o afección asociados con la expresión de STAT3 en un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, un kit comprende un oligonucleótido en la presente descripción y un portador farmacéuticamente aceptable, o una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido e instrucciones para tratar o retrasar la progresión de un cáncer en un sujeto que lo necesita.

EJEMPLOS

Si bien la descripción se ha descrito con referencia a las modalidades específicas que se exponen en los siguientes ejemplos, los expertos en la técnica deben entender que pueden realizarse varios cambios y pueden sustituirse equivalentes sin apartarse del verdadero espíritu y alcance de la descripción. Además, los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no pretenden limitar el alcance de la descripción de ninguna manera. Además, podrán realizarse modificaciones para adaptarse a una situación, material, composición de la materia, proceso, etapa o etapas del proceso, al objetivo, espíritu y alcance de la descripción. Todas estas modificaciones pretenden estar dentro del alcance de la descripción. Se utilizaron técnicas estándar bien conocidas en la técnica o las técnicas descritas específicamente más abajo.

Los siguientes ejemplos describen el desarrollo del mecanismo de suministro de conjugado lipídico de ARNip para suministrar una carga útil de ARNi a células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) para silenciar genes que median la inmunosupresión. Inicialmente se

usó un conjugado lipídico sustitutivo ALDH2-GalXC para suministrar la carga útil a ambos subtipos de MDSC en el microentorno tumoral (TME), así como también a las MDSC encontradas en los ganglios linfáticos que drenan el tumor (TdLN) para silenciar ALDH2. Posteriormente, se construyó un conjugado lipídico STAT3-GalXC para dirigir y silenciar el gen STAT3 en las MDSC. El tratamiento dirigido a STAT3 se considera un enfoque prometedor, ya que es un factor de transcripción principal asociado a la actividad inmunosupresora en las células mieloides. Se conoce que la activación de STAT3 desempeña un papel importante en la promoción de los efectos tolerogénicos en el TME. Aunque STAT3 se expresa en las células tumorales, el enfoque para dirigirse a la señalización de STAT3 en las células mieloides asociadas al tumor en el TME y en TdLN, sin afectar a la señalización de STAT3 en las células cancerosas, demostró previamente ser suficiente para inhibir los efectos tolerogénicos e inducir inmunidad antitumoral e inhibir el crecimiento tumoral de diversos tumores sólidos. (Kortylewski y otros, NAT MED 2005). Como objetivo de prueba de concepto, demostramos que la inactivación de STAT3 en las MDSC tanto en el TME como en el TdLN. Estos datos sugieren que un conjugado lipídico GalXC-STAT3 u otra combinación de conjugado diana adaptada a una diana específica de MDSC o TdLN tiene el potencial de sensibilizar a los tumores resistentes al tratamiento al bloqueo del punto de control inmunitario.

Para que la descripción proporcionada en la presente descripción pueda entenderse más completamente, se exponen los siguientes ejemplos. Los ejemplos descritos en esta solicitud se ofrecen para ilustrar los métodos, composiciones y sistemas proporcionados en la presente descripción y no deben interpretarse de ninguna manera como limitantes de su alcance.

Abreviaturas

Ac: acetyl

AcOH: ácido acético

ACN: acetonitrilo

Ad: adamantilo

AIBN: 2,2'-azo bisisobutironitrilo

Anhid: anhidro

Aq: acuosa

B₂Pin₂: bis (pinacolato)diboron-4,4,4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano)

BINAP: 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo

BH₃: Borano

Bn: bencilo

Boc: *terc*-butoxicarbonilo

Boc₂O: dicarbonato de di-*terc*-butilo

BPO: peróxido de benzoilo

BuOH: n-butanol

CDI: carbonildiimidazol

COD: ciclooctadieno

d: días

DABCO: 1,4-diazobiciclo[2.2.2]octano

DAST: trifluoruro de dietilaminoazufre

dba: dibencilidenoacetona

DBU: 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno

DCE: 1,2-dicloroetano

DCM: diclorometano

AED: dietilamina

DHP: dihidropirano

DIBAL-H: hidruro de diisobutilaluminio

DIPA: diisopropilamina

DIPEA o DIEA: N,N-diisopropiletilamina

DMA: N,N-dimetilacetamida

EMD: 1,2-dimetoxietano

DMAP: 4-dimetilaminopiridina

DMF: N,N-dimetilformamida

DMP: Periodinano de Dess-Martin

DMSO-sulfóxido de dimetilo

DMTr: 4,4'-dimetioxitritilo

DPPA: difenilfosforilazida

dppf: 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno

EDC o EDCI: hidrocloreuro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida

ee: exceso enantiomérico

ESI: ionización por electropulverización

EA: acetato de etilo

EtOAc: acetato de etilo

EtOH: etanol

FA: ácido fórmico

h u hs: horas

HATU: Hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio

HCl: ácido clorhídrico

HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento

HOAc: ácido acético

IBX: ácido 2-iodoxibenzoico

IPA: alcohol isopropílico

KHMDS: hexametildisilazida de potasio

K₂CO₃: carbonato de potasio

LAH: hidruro de litio-aluminio

LDA: diisopropilamida de litio

L-DBTA: ácido dibenzoil-L-tartárico

m-CPBA: ácido metacloroperbenzoico

M: molar

MeCN: acetonitrilo

MeOH: metanol

Me₂S: dimetilsulfuro

MeONa: metilato de sodio

MeI: yodometano

min: minutos

ml: mililitro

mM: milimolar

mmol: milimoles

MPa: mega pascal

MOMCl: metilclorometiléter
MsCl: cloruro de metanosulfonilo
MTBE: éter metílico de *terc* butilo
nBuLi: n-butil litio
NaNO₂: nitrito de sodio
NaOH: hidróxido de sodio
Na₂SO₄: sulfato de sodio
NBS: N-bromosuccinimida
NCS: N-clorosuccinimida
NFSI: N-Fluorobencenosulfonimida
NMO: N-metilmorfolina N-óxido
NMP: N-metilpirrolidona
NMR: Resonancia Magnética Nuclear
°C: grados Celsius
Pd/C: Paladio sobre carbono
Pd(OAc)₂: Acetato de paladio
PBS: solución salina tamponada con fosfato
PE: éter de petróleo
POCl₃: oxiclورو de fósforo
PPh₃: trifenilfosfina
PyBoP: Hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio
Rel: relativo
R.T. o rt: temperatura ambiente
s o s: segundo
sat: saturado
SEMCl: éter de clorometil-2-trimetilsililetil
SFC: cromatografía de líquidos supercrítica
SOCl₂: dicloruro de azufre
tBuOK: *terc*-butóxido de potasio
TBAB: bromuro de tetrabutilamonio
TBAF: fluoruro de tetrabutilamonio

TBAI: yoduro de tetrabutilamonio

TEA: trietilamina

Tf: trifluorometanosulfonato

TfAA, TFMSA o Tf_2O : trifluorometanosulfónico anhídrido

TFA: ácido trifluoroacético

TIBSCl: cloruro de 2,4,6-triisopropilbencenosulfonilo

TIPS: triisopropilsililo

THF: tetrahidrofurano

THP: tetrahidropirano

TLC: cromatografía de capa fina

TMEDA: tetrametiletilendiamina

pTSA: ácido paratoluenosulfónico

UPLC: Cromatografía líquida de ultra alto rendimiento

p: peso

Xantfos: 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno

Ejemplo 1: Preparación de oligonucleótidos de ARNi bicatenarios

Métodos sintéticos generales

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la descripción y no deben interpretarse como limitaciones de esta. Las temperaturas se indican en grados centígrados (C). Si no se menciona de cualquier otra manera, todas las evaporaciones se realizan a presión reducida, preferentemente entre aproximadamente 15 mm Hg y 100 mm Hg (= 20-133 mbar). La estructura de los productos finales, intermedios y materiales de partida se confirmó mediante métodos analíticos estándar, por ejemplo, microanálisis y características espectroscópicas, por ejemplo, MS, IR, NMR. Las abreviaturas usadas son las convencionales en la técnica.

Todos los materiales iniciales, bloques de construcción, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, solventes y catalizadores utilizados para sintetizar el ácido nucleico o análogos de este de la presente descripción están disponibles comercialmente o pueden producirse mediante métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto en la técnica (METHODS OF ORGANIC SYNTHESIS, Thieme, Volumen 21 (Houben-Weyl 4ta Ed. 1952)).

Además, el ácido nucleico o análogos de este de la presente descripción pueden producirse

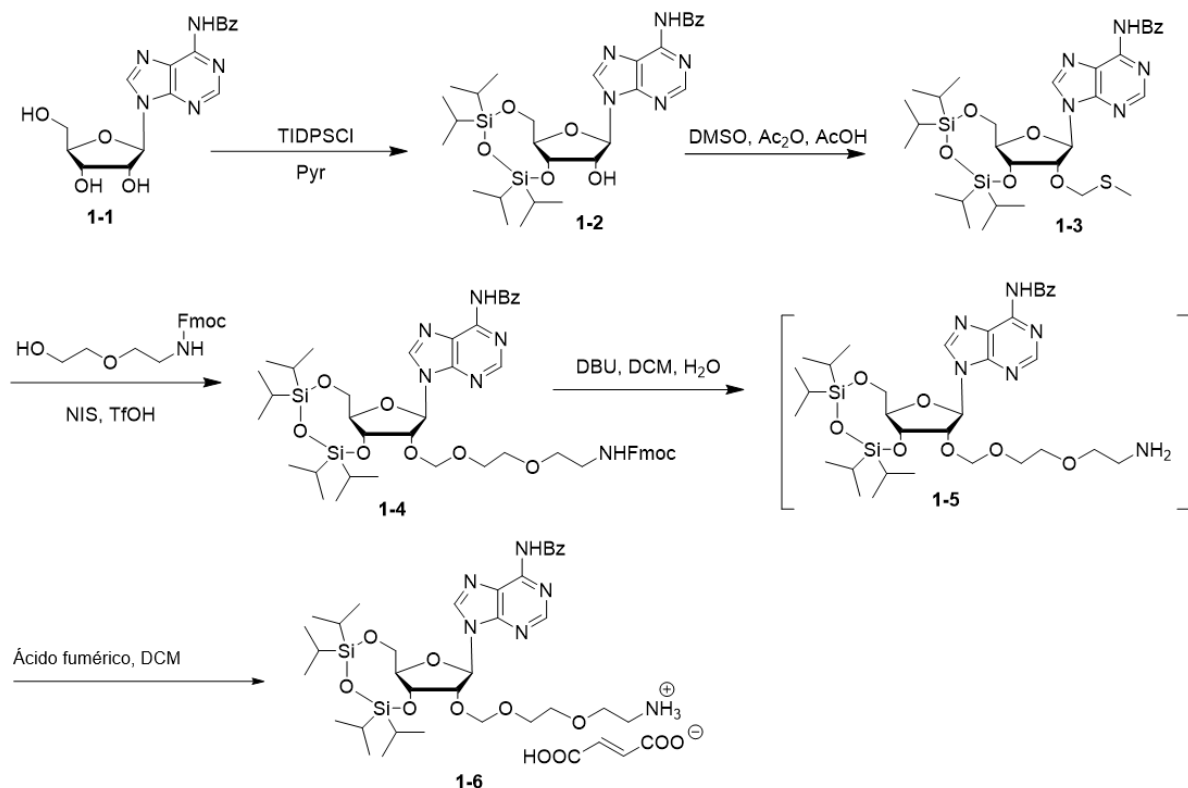
mediante métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto en la técnica como se muestra en los siguientes ejemplos.

Todas las reacciones se realizan bajo atmósfera de nitrógeno o argón a menos que se indique de cualquier otra manera.

La RMN de protones (RMN ^1H) se realizó en solvente deuterado. En determinados ácidos nucleicos o análogos de estos descritos en la presente descripción, uno o más cambios de ^1H se superponen con señales residuales de solvente de proteo; estas señales no se han notificado en el experimental proporcionado a continuación.

Como se representa en los Ejemplos más abajo, en determinadas modalidades ilustrativas, el ácido nucleico o análogos de este se prepararon de acuerdo con los siguientes procedimientos generales. Se apreciará que, aunque los métodos generales representan la síntesis de determinados ácidos nucleicos o análogos de estos de la presente descripción, los siguientes métodos generales, y otros métodos conocidos por un experto en la técnica, pueden aplicarse a todos los ácidos nucleicos o análogos de estos y subclases y especies de cada uno de estos ácidos nucleicos o análogos de estos, como se describió en la presente descripción.

Ejemplo 1a: Síntesis de 2-(2-((((6aR,8R,9R,9aR)-8-(6-benzamido-9H-purin-9-yl)-2,2,4,4-tetraisopropiltetrahidro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisilocin-9-yl)oxy)metoxy)etoxi)formiato de etan-1-amonio (1-6)



Una solución del compuesto 1-1 (25.00 g, 67.38 mmol) en 20 ml de DMF se trató con piridina (11 ml, 134.67 mmol) y tetraisopropildisiloxano (22.63 ml, 70.75 mmol) a 10 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 3 h y se inactivó con ácido cítrico al 20 % (50 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3X50 ml) y las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío. El residuo crudo se recrystalizó a partir de una mezcla de MTBE y n-heptano (1:15, 320 ml) para proporcionar el compuesto 1-2 (37.20 g, 90 %) como un sólido oleoso blanco.

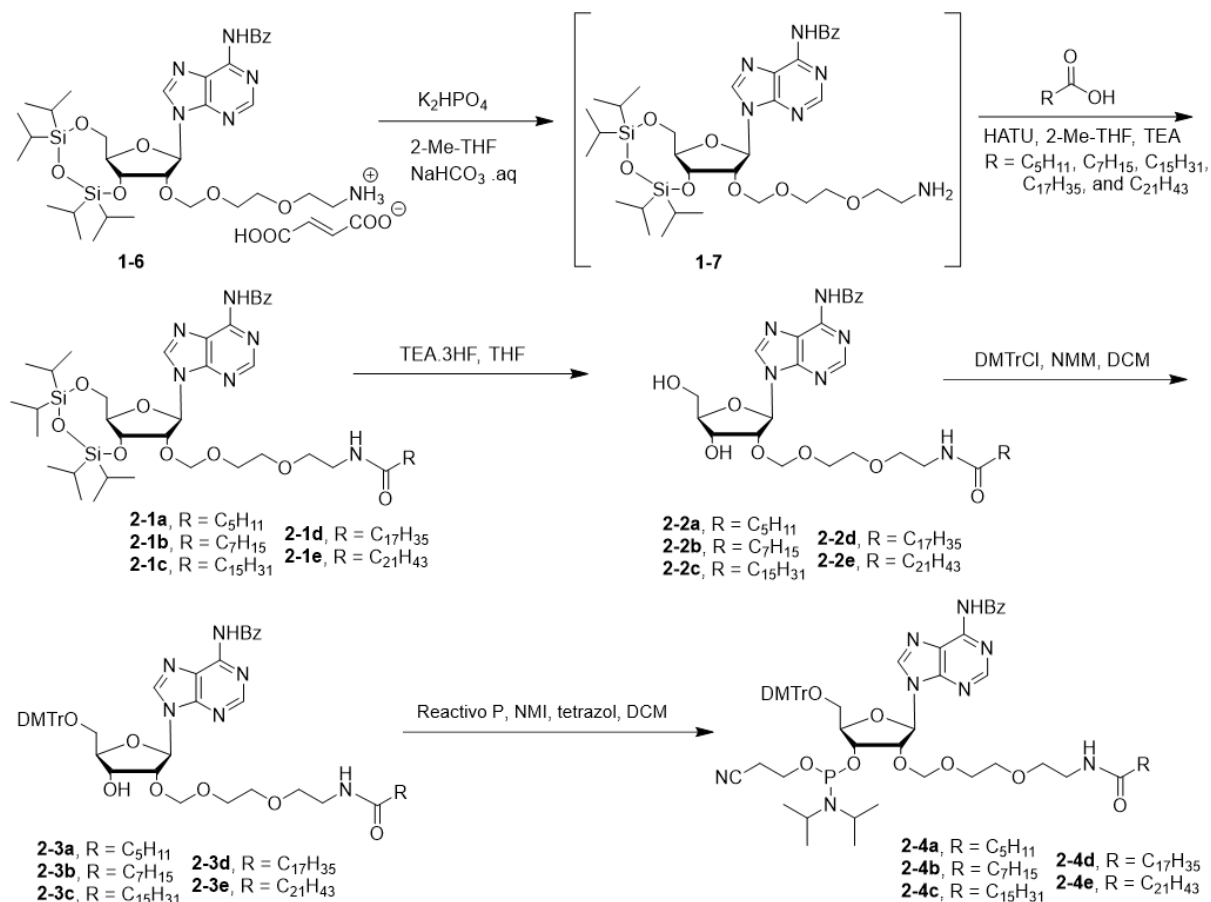
Una solución del compuesto 1-2 (37.00 g, 60.33 mmol) en 20 ml de DMSO se trató con AcOH (20 ml, 317.20 mmol) y Ac₂O (15 ml, 156.68 mmol). La mezcla se agitó 25 °C durante 15 h. La reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se inactivó con solución saturada de K₂CO₃ (50 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3X50 ml). Las capas orgánicas combinadas se concentraron y se recrystalizaron con ACN (30 ml) para proporcionar el compuesto 1-3 (15.65 g, 38.4 %) como un sólido blanco.

Una solución del compuesto 1-3 (20.00 g, 29.72 mmol) en 120 ml de DCM se trató con Fmoc-amino-etoxietanol (11.67 g, 35.66 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó para proporcionar una solución transparente y después se trató con tamices moleculares de 4Å

(20.0 g), *N*-iodosuccinimida (8.02 g, 35.66 mmol) y TfOH (5.25 ml, 59.44 mmol). La mezcla se agitó a 30 °C hasta que el análisis de HPLC indicó un consumo >95 % del compuesto 1-3. La reacción se inactivó con TEA (6 ml) y se filtró. El filtrado se diluyó con EtOAc, se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (2X100 ml). Na₂SO₃ (2X100 ml) saturado y agua (2X100 ml) y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto crudo 1-4 (26.34 g, 93.9 %) como un sólido amarillo, que se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Una solución del compuesto 1-4 (26.34 g, 27.62 mmol) en una mezcla de DCM/agua (10:7, 170 ml) se trató con DBU (7.00 ml, 45.08 mmol) a 5 °C. La mezcla se agitó a 5-25 °C durante 1 h. La capa orgánica se separó, se lavó con agua (100 ml) y se diluyó con DCM (130 ml). La solución se trató con ácido fumárico (7.05 g, 60.76 mmol) y tamices moleculares de 4Å (26.34 g) en cuatro porciones. La mezcla se agitó durante 1 h, se concentró y se recristalizó a partir de una mezcla de MTBE y DCM (5:1) para proporcionar el compuesto 1-6 (14.74 g, 62.9 %) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) 8.73 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.15-8.02 (m, 2H), 7.65-7.60 (m, 1H), 7.59-7.51 (m, 2H), 6.52 (s, 2H), 6.15(s, 1H), 5.08-4.90 (m, 3H), 4.83-4.78 (m, 1H), 4.15-3.90 (m, 3H), 3.79-3.65 (m, 2H), 2.98-2.85 (m, 6H), 1.20-0.95 (m, 28H).

Ejemplo 1b: Síntesis de (2R,3R,4R,5R)-5-(6-benzamido-9H-purin-9-il)-2-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-4-((2-(2-[lípidol]-amidoetoxi)etoxi)metoxi)tetrahidrofuran-3-il (2-cianoetil) diisopropilfosforamidita (2-4a a 2-4e)



Una solución del compuesto 1-6 (50.00 g, 59.01 mmol) en 150 ml de 2-metiltetrahidrofurano se lavó con K₂HPO₄ acuoso frío (6 %, 100 ml) y salmuera (20 %, 2X100 ml). La capa orgánica se separó y se trató con ácido hexanoico (10.33 ml, 82.61 mmol), HATU (33.66 g, 88.52 mmol) y DMAP (10.81 g, 147.52 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se calentó a 25 °C y se agitó durante 1 h. La solución se lavó con agua (2X100 ml), salmuera (100 ml) y se concentró al vacío para proporcionar un residuo crudo. La cromatografía rápida en gel de sílice (hexanos/acetona 1:1) dio el compuesto 2-1a (34.95 g, 71.5 %) como un sólido blanco.

Una mezcla del compuesto 2-1a (34.95 g, 42.19 mmol) y TEA (9.28 ml, 126.58 mmol) en 80 ml de THF se trató con trihidrofluoruro de trietilamina (20.61 ml, 126.58 mmol) gota a gota a 10 °C. La mezcla se calentó a 25 °C y se agitó durante 2 h. La reacción se concentró, se disolvió en DCM (100 ml) y se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (5X20 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se concentró al vacío para proporcionar el compuesto crudo 2-2a (24.72 g, 99 %), que se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación.

adicional.

Una solución del compuesto 2-2a (24.72 g, 42.18 mmol) en 50 ml de DCM se trató con *N*-metilmorfolina (18.54 ml, 168.67 mmol) y DMTr-Cl (15.69 g, 46.38 mmol). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h y se inactivó con solución saturada de NaHCO₃ (50 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se concentró para proporcionar una suspensión cruda. La cromatografía rápida en gel de sílice (hexanos/acetona 1:1) dio el compuesto 2-3a (30.05 g, 33.8 mmol, 79.9 %) como un sólido blanco.

Una solución del compuesto 2-3a (25.00 g, 28.17 mmol) en 50 ml de DCM se trató con *N*-metilmorfolina (3.10 ml, 28.17 mmol) y tetrazol (0.67 ml, 14.09 mmol) en atmósfera de nitrógeno. Se añadió bis(diisopropilamino) clorofosfina (9.02 g, 33.80 mmol) a la solución, gota a gota, y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 4 h. La reacción se inactivó con agua (15 ml) y la capa acuosa se extrajo con DCM (3X50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaHCO₃ (50 ml), se concentró para proporcionar un sólido crudo que se recrystalizó a partir de una mezcla de DCM/MTBE/*n*-hexano (1:4:40) para proporcionar el compuesto 2-4a (25.52 g, 83.4 %) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) 11.25 (s, 1H), 8.65-8.60 (m, 2 H), 8.09-8.02 (m, 2H), 7.71 (s, 1H), 7.67-7.60 (m, 1H), 7.59-7.51 (m, 2H), 7.38-7.34 (m, 2H), 7.30-7.25 (m, 7H), 6.85-6.79 (m, 4H), 6.23-6.20 (m, 1H), 5.23-5.14 (m, 1H), 4.80-4.69 (m, 3H), 4.33-4.23 (m, 2H), 3.90-3.78 (m, 1H), 3.75 (s, 6H), 3.74-3.52 (m, 3H), 3.50-3.20 (m, 6H), 3.14-3.09 (m, 2H), 3.09 (s, 1H), 2.82-2.80 (m, 1H), 2.65-2.60 (m, 1H), 2.05-1.96 (m, 2H), 1.50-1.39 (m, 2H), 1.31-1.10 (m, 14H), 1.08-1.05 (m, 2 H), 0.85-0.79 (m, 3H); ³¹P NMR (162 MHz, *d*₆-DMSO) 149.43, 149.18.

Los compuestos 2-4b, 2-4c, 2-4d y 2-4e se prepararon mediante el uso de procedimientos similares descritos anteriormente para el compuesto 2-4a. El compuesto 2-4b se obtuvo (25.50 g, 85.4 %) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) 11.23 (s, 1H), 8.65-8.60 (m, 2 H), 8.05-8.02 (m, 2H), 7.73-7.70 (m, 1H), 7.67-7.60 (m, 1H), 7.59-7.51 (m, 2H), 7.38-7.34 (m, 2H), 7.30-7.25 (m, 7H), 6.89-6.80 (m, 4H), 6.21-6.15 (m, 1H), 5.23-5.17 (m, 1H), 4.80-4.69 (m, 3H), 4.40-4.21 (m, 2H), 3.91-3.80 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.74-3.52 (m, 3H), 3.50-3.20 (m, 6H), 3.14-3.09 (m, 2H), 3.09 (s, 1H), 2.83-2.79 (m, 1H), 2.68-2.62 (m, 1H), 2.05-1.97 (m, 2H), 1.50-1.38 (m, 2H), 1.31-1.10 (m, 18H), 1.08-1.05 (m, 2H), 0.85-0.78 (m, 3H); ³¹P NMR (162 MHz, *d*₆-DMSO) 149.43, 149.19.

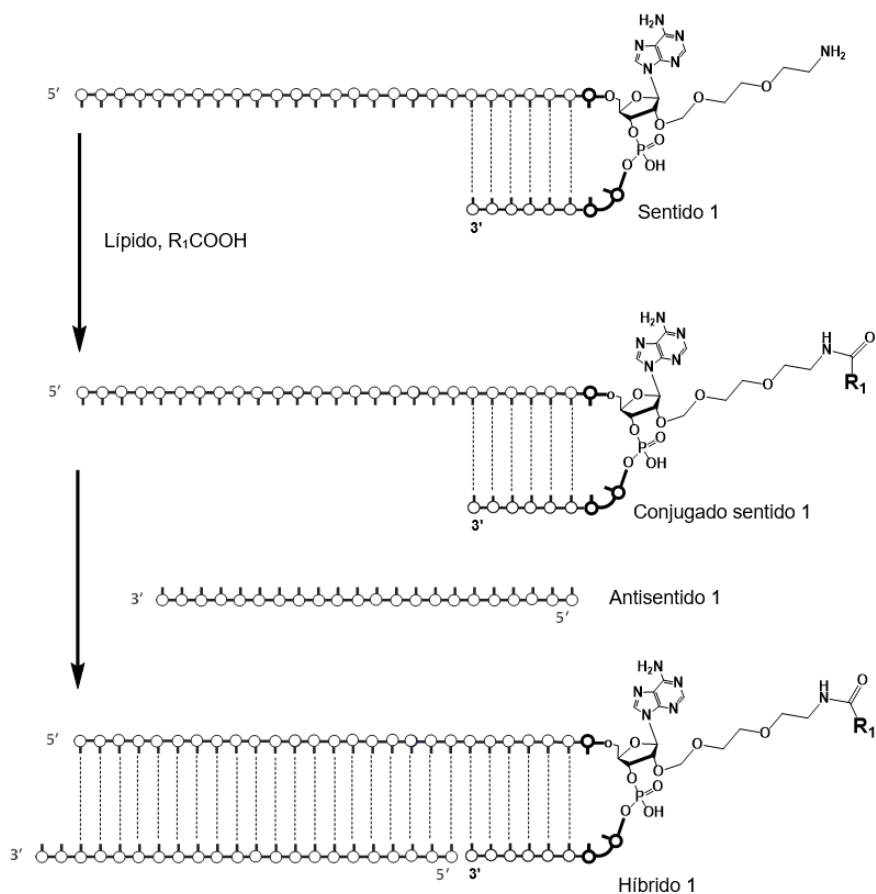
El compuesto 2-4c se obtuvo (36.60 g, 66.3 %) como un sólido blanquecino: ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) 11.22 (s, 1H), 8.64-8.59 (m, 2H), 8.05-8.00 (m, 2H), 7.73-7.70 (m, 1H), 7.67-7.60 (m, 1H), 7.59-7.51 (m, 2H), 7.38-7.34 (m, 2H), 7.30-7.25 (m, 7H), 6.89-6.80 (m, 4H), 6.21-6.15 (m, 1H), 5.25-5.17 (m, 1H), 4.80-4.69 (m, 3H), 4.40-4.21 (m, 2H), 3.91-3.80 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.74-3.50 (m, 3H), 3.50-3.20 (m, 6H), 3.14-3.09 (m, 2H), 3.09 (s, 1H), 2.83-2.79 (m, 1H), 2.68-2.62 (m, 1H), 2.05-1.99 (m, 2H), 1.50-1.38 (m, 2H), 1.33-1.12 (m, 38H), 1.08-1.05 (m, 2 H), 0.86-0.80 (m, 3H); ^{31}P NMR (162 MHz, d_6 -DMSO) 149.42, 149.17.

El compuesto 2-4d se obtuvo (26.60 g, 72.9 %) como un sólido blanquecino: ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) 11.22 (s, 1H), 8.64-8.59 (m, 2H), 8.05-8.00 (m, 2H), 7.73-7.70 (m, 1H), 7.67-7.60 (m, 1H), 7.59-7.51 (m, 2H), 7.38-7.33 (m, 2H), 7.30-7.25 (m, 7H), 6.89-6.80 (m, 4H), 6.21-6.15 (m, 1H), 5.22-5.17 (m, 1H), 4.80-4.69 (m, 3H), 4.40-4.21 (m, 2H), 3.91-3.80 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.74-3.52 (m, 3H), 3.50-3.20 (m, 6H), 3.14-3.09 (m, 2H), 3.09 (s, 1H), 2.83-2.79 (m, 1H), 2.68-2.62 (m, 1H), 2.05-1.99 (m, 2H), 1.50-1.38 (m, 2H), 1.35-1.08 (m, 38H), 1.08-1.05 (m, 2 H), 0.85-0.79 (m, 3H); ^{31}P NMR (162 MHz, d_6 -DMSO) 149.47, 149.22.

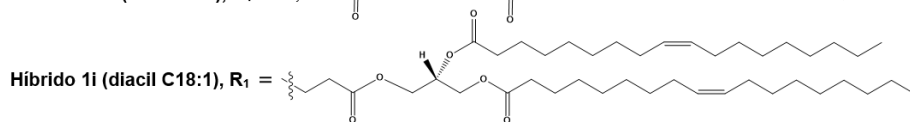
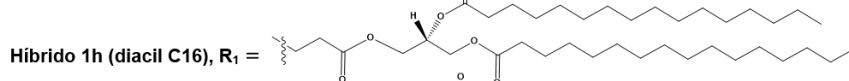
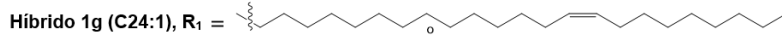
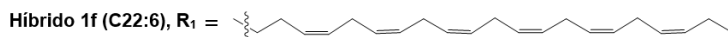
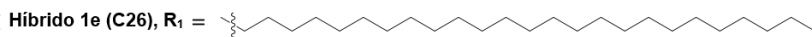
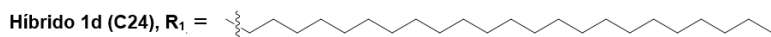
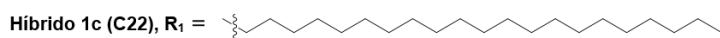
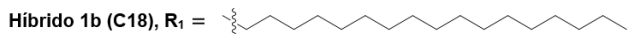
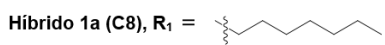
El compuesto 2-4e se obtuvo (38.10 g, 54.0 %) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) 11.21 (s, 1H), 8.64-8.59 (m, 2H), 8.05-8.00 (m, 2H), 7.73-7.70 (m, 1H), 7.67-7.60 (m, 1H), 7.59-7.51 (m, 2H), 7.38-7.34 (m, 2H), 7.30-7.25 (m, 7H), 6.89-6.80 (m, 4H), 6.21-6.15 (m, 1H), 5.23-5.17 (m, 1H), 4.80-4.69 (m, 3H), 4.40-4.21 (m, 2H), 3.91-3.80 (m, 1H), 3.73 (s, 6H), 3.74-3.52 (m, 3H), 3.47-3.22 (m, 6H), 3.14-3.09 (m, 2H), 3.09 (s, 1H), 2.83-2.79 (m, 1H), 2.68-2.62 (m, 1H), 2.05-1.99 (m, 2H), 1.50-1.38 (m, 2H), 1.35-1.06 (m, 46H), 1.08-1.06 (m, 2 H), 0.85-0.77 (m, 3H); ^{31}P NMR (162 MHz, d_6 -DMSO) 149.41, 149.15.

Ejemplo 2. Síntesis de conjugados de lípido y oligonucleótido de ARNi GalXC

Esquema 1. Síntesis de conjugados de lípido y oligonucleótidos de ARNi GalXC con monolípidos (lineales y ramificados) conjugados al tetralazo. La conjugación postsintética se realizó a través de reacciones de acoplamiento de amida.



El grupo R₁COOH representa los ácidos grasos C8:0, C10:0, C11:0, C12:0, C14:0, C16:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C22:5, C22:0, C24:0, C26:0, C22:6, C24:1, diacil C16:0 o diacil C18:1



La síntesis de sentido 1 y antisentido 1 se prepararon mediante síntesis en fase sólida.

Síntesis del conjugado sentido 1a -1i.

El conjugado sentido 1a se sintetizó mediante un enfoque de conjugación postsintético. En el tubo Eppendorf 1, una solución de ácido octanoico (0.58 mg, 4 μ mol) en DMA (0.75 ml) se trató con HATU (1.52 mg, 4 μ mol) a la temperatura ambiente. En el tubo Eppendorf 2, una solución de oligo Sentido 1 (10.00 mg, 0.8 μ mol) en H₂O (0.25 ml) se trató con DIPEA (1.39 μ l, 8 μ mol). La solución en el tubo Eppendorf 1 se añadió al tubo Eppendorf 2 y se mezcló mediante el uso Thermomixer a rt. Después de completar la reacción indicada por el análisis de LC-MS, la mezcla de reacción se diluyó con 5 ml de agua y se purificó mediante la columna de fase inversa XBridge C18 mediante el uso de un gradiente de 5-95 % de TEAA 100 mM en ACN y H₂O. Las fracciones del producto se concentraron a presión reducida mediante el uso de Genevac. El solvente residual combinado se dializó contra agua (1 X), solución salina (1 X) y agua (3 X) mediante el uso de la centrífuga Amicon® Ultra-15 (3K). La membrana de Amicon se lavó con agua (3 X 2 ml) y los solventes combinados se liofilizaron para proporcionar un sólido blanco amorfo del conjugado sentido 1a (6.43 mg, rendimiento del 64 %).

El conjugado sentido 1b-1i se preparó mediante el uso de procedimientos similares como se describió para la síntesis del conjugado sentido 1a y se obtuvo un rendimientos del 42 %-69 %.

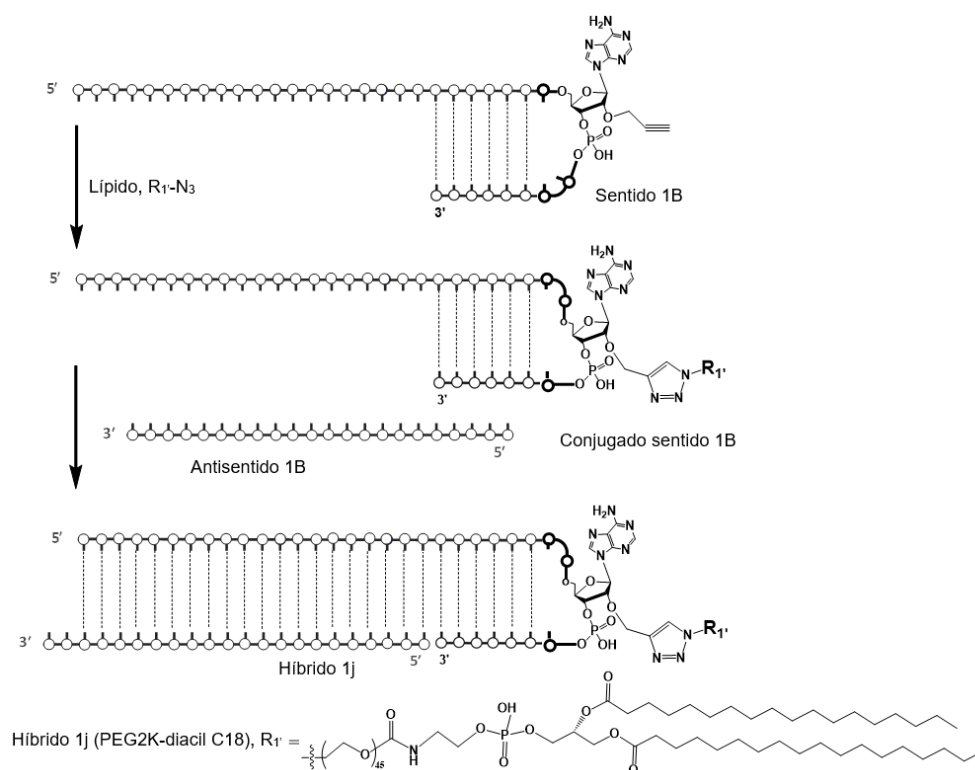
Hibridación del híbrido 1a-1j.

El conjugado sentido 1a (10 mg, medido en peso) se disolvió en 0.5 ml de agua desionizada para preparar una solución de 20 mg/ml. El antisentido 1 (10 mg, medido por DO) se disolvió en 0.5 ml de agua desionizada para preparar una solución de 20 mg/ml, que se usó para titular la dosis del conjugado sentido y la cuantificación de la cantidad del híbrido. En base al cálculo de las cantidades molares tanto del conjugado sentido como del antisentido, se añadió una proporción del antisentido 1 requerido a la solución del conjugado sentido 1a. La mezcla resultante se agitó a 95 °C durante 5 min y se dejó enfriar hasta rt. El progreso de hibridación se monitoreó mediante HPLC de intercambio iónico. En base al progreso de la hibridación, se añadieron varias proporciones de antisentido 1 para completar la hibridación con >95 % de pureza. La solución se liofilizó para proporcionar el híbrido 1a (C8) y su cantidad se calculó en base a la cantidad molar del antisentido consumido en la

hibridación.

El híbrido 1b-1i se preparó mediante el uso de los mismos procedimientos como se describió para la hibridación del híbrido 1a (C8).

El siguiente Esquema 1-2 representa la síntesis de conjugados de tetralazo GalXC con mella con monolípido en el lazo. La conjugación postsintética se realizó a través de la reacción de cicloadición de alquinoazida catalizada con Cu.



Esquema 1-2

El sentido 1B y el antisentido 1B se prepararon mediante síntesis en fase sólida.

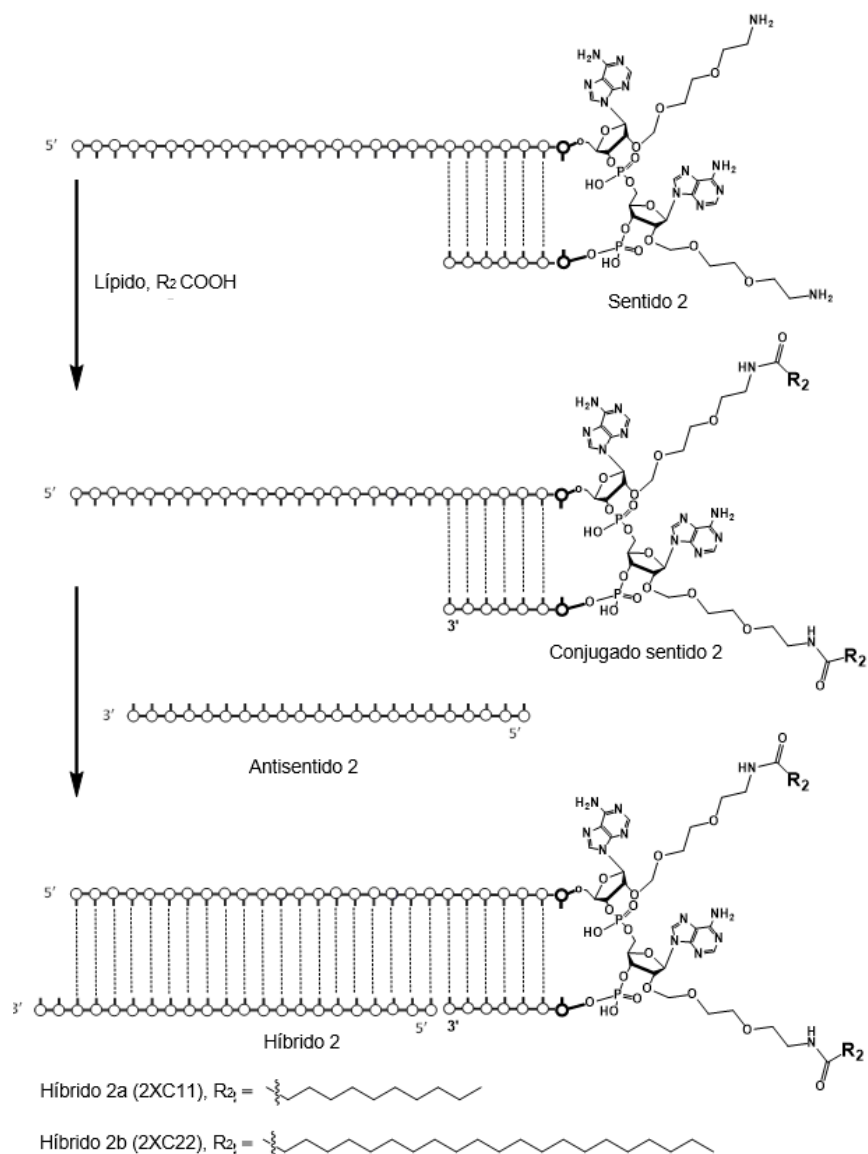
Síntesis del conjugado sentido 1j.

En el tubo Eppendorf 1, una solución de oligo (10.00 mg, 0.8 μ mol) en una mezcla 3:1 de DMA/H₂O (0.5 ml) se trató con azida enlazadora de lípidos (11.26 mg, 4 μ mol). En el tubo Eppendorf 2, el dimetilsulfuro de CuBr (1.64 mg, 8 μ mol) se disolvió en ACN (0.5 ml). Ambas soluciones se desgasificaron durante 10 min mediante burbujeo con N₂ a través de ellas. La solución ACN de CuBrSMe₂ se añadió entonces al tubo 1 y la mezcla resultante se agitó a 40 °C. Después de completar la reacción indicada por el análisis LC-MS, la mezcla de reacción se diluyó con EDTA 0.5 M (2 ml) y se dializó contra agua (2 X) mediante el uso de una centrífuga Amicon® Ultra-15 (3K). La reacción cruda se purificó mediante la

columna de fase inversa XBridge C18 mediante el uso de un gradiente del 5-95 % de TEAA a 100 mM en ACN (con IPA al 30 % añadido) y H₂O. Las fracciones del producto se concentraron a presión reducida mediante el uso de Genevac. El solvente residual combinado se dializó contra agua (1 X), solución salina (1 X) y agua (3 X) mediante el uso de la centrífuga Amicon® Ultra-15 (3K). La membrana Amicon se lavó con agua (3 X 2 ml) y los solventes combinados se liofilizaron para proporcionar un sólido blanco amorfo de conjugado sentido 1j (6.90 mg, rendimiento del 57 %).

El híbrido 1j (PEG2K-diacil C18) se preparó mediante el uso de los mismos procedimientos como se describió para la hibridación del híbrido 1a (C8).

El siguiente Esquema 1-3 representa la síntesis de conjugados de tetralazo con mella GalXC con dilípidos en el lazo mediante el uso de un enfoque de conjugación postsintética.



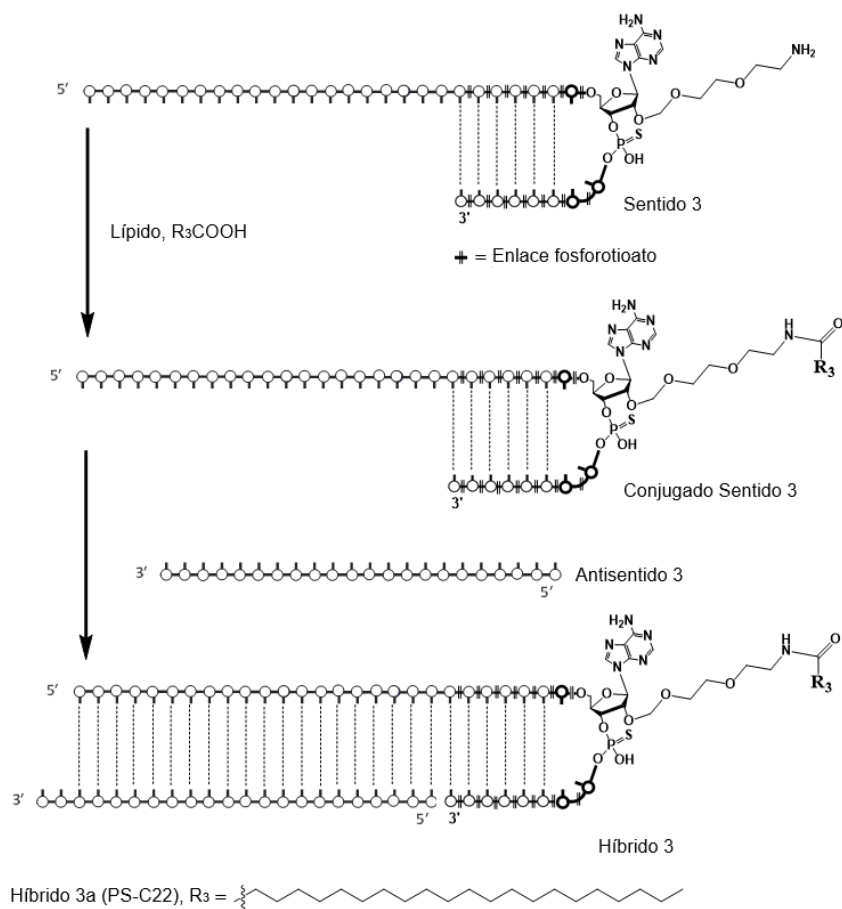
Esquema 1-3

El sentido 2 y el antisentido 2 se prepararon mediante síntesis en fase sólida.

Los conjugados sentidos 2a y 2b se prepararon mediante el uso de procedimientos similares como se describió para la síntesis del conjugado sentido 1a pero con 10 eq de lípidos, 10 eq de HATU y 20 eq de DIPEA.

El híbrido 2a (2XC11) y 2b (2XC22) se prepararon mediante el uso de los mismos procedimientos como se describió para la hibridación del híbrido 1a (C8).

El siguiente Esquema 1-4 representa la síntesis de GalXC de una estructura de tallo y lazo totalmente fosforotioado conjugado con monolípidio mediante el uso de un enfoque de conjugación postsintética.



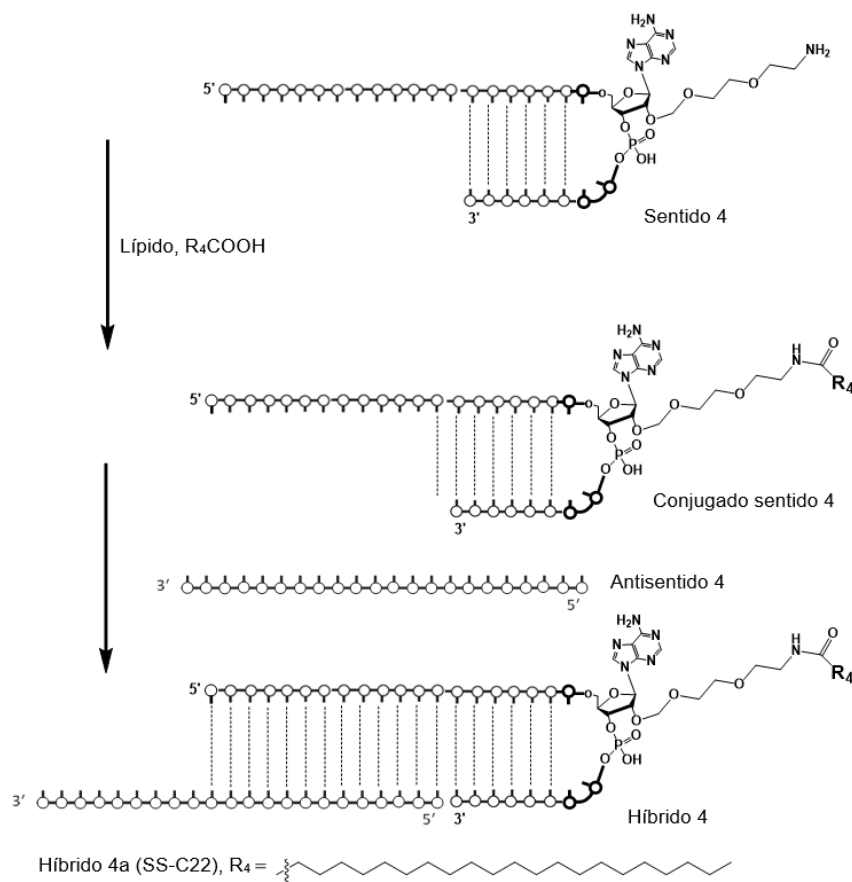
Esquema 1-4

El sentido 3 y el antisentido 3 se prepararon mediante síntesis en fase sólida.

El conjugado sentido 3a se preparó mediante el uso de procedimientos similares como se describió para la síntesis del conjugado sentido 1a y se obtuvo en un rendimiento del 65 %.

El híbrido 3a (PS-C22) se preparó mediante el uso de los mismos procedimientos como se describió para el hibridación del híbrido 1a (C8).

El siguiente Scheme1-5 representa la síntesis de GalXC de sentido corto conjugado con monolípido mediante el uso de un enfoque de conjugación postsintético.



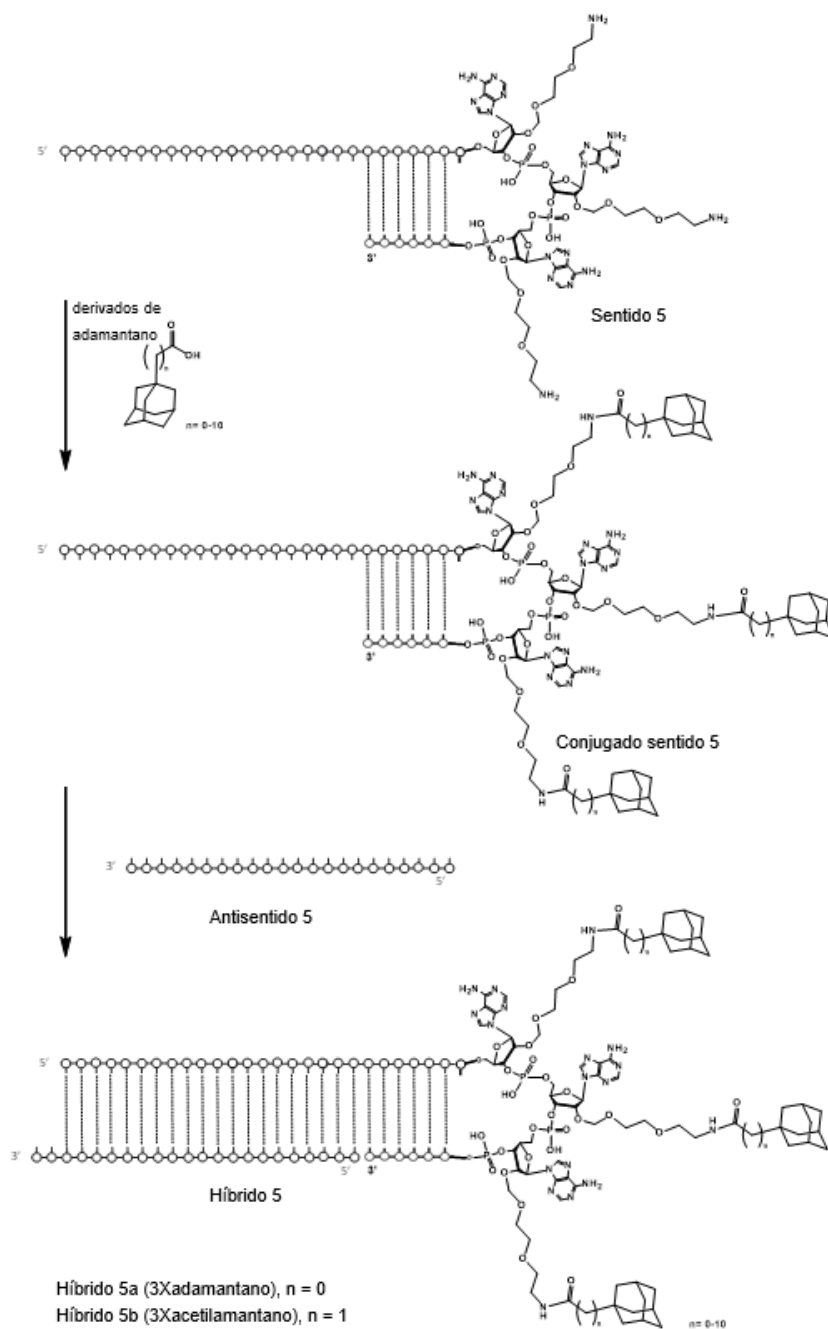
Esquema 1-5

El sentido 4 y el antisentido 4 se prepararon mediante síntesis en fase sólida.

El conjugado sentido 4a se preparó mediante el uso de procedimientos similares como se describió para la síntesis del conjugado sentido 1a y se obtuvo en un rendimiento del 74 %.

El híbrido 4a (SS-C22) se preparó mediante el uso de los mismos procedimientos como se describió para la hibridación del híbrido 1a (C8).

El siguiente Esquema 1-6 representa la síntesis de tetralazo con mella GalXC conjugado con una porción de triadamantano en el lazo mediante el uso de un enfoque de conjugación postsintética.



Esquema 1-6

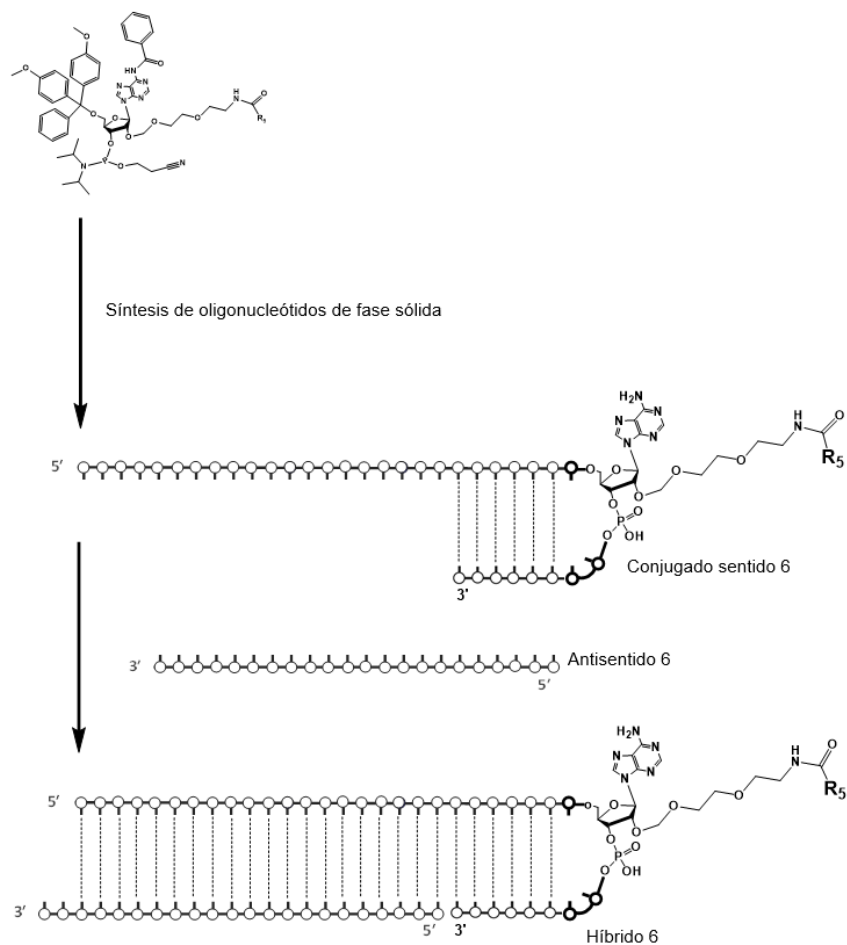
El sentido 5 y el antisentido 5 se prepararon mediante síntesis en fase sólida.

Los conjugados sentido 5a y 5b se prepararon mediante el uso de procedimientos similares como se describió para la síntesis del conjugado sentido 1a y se obtuvieron en rendimientos del 42 %-73 %.

El híbrido 5a (3Xadamantano) y el híbrido 5b (3Xacetiladamantano) se prepararon mediante el uso de los mismos procedimientos como se describió para la hibridación del

híbrido 1a (C8).

El siguiente esquema 1-7 representa un ejemplo de síntesis de fase sólida de tetralazo con mella GalXC conjugado con lípido(s) en el lazo.



Esquema 1-7

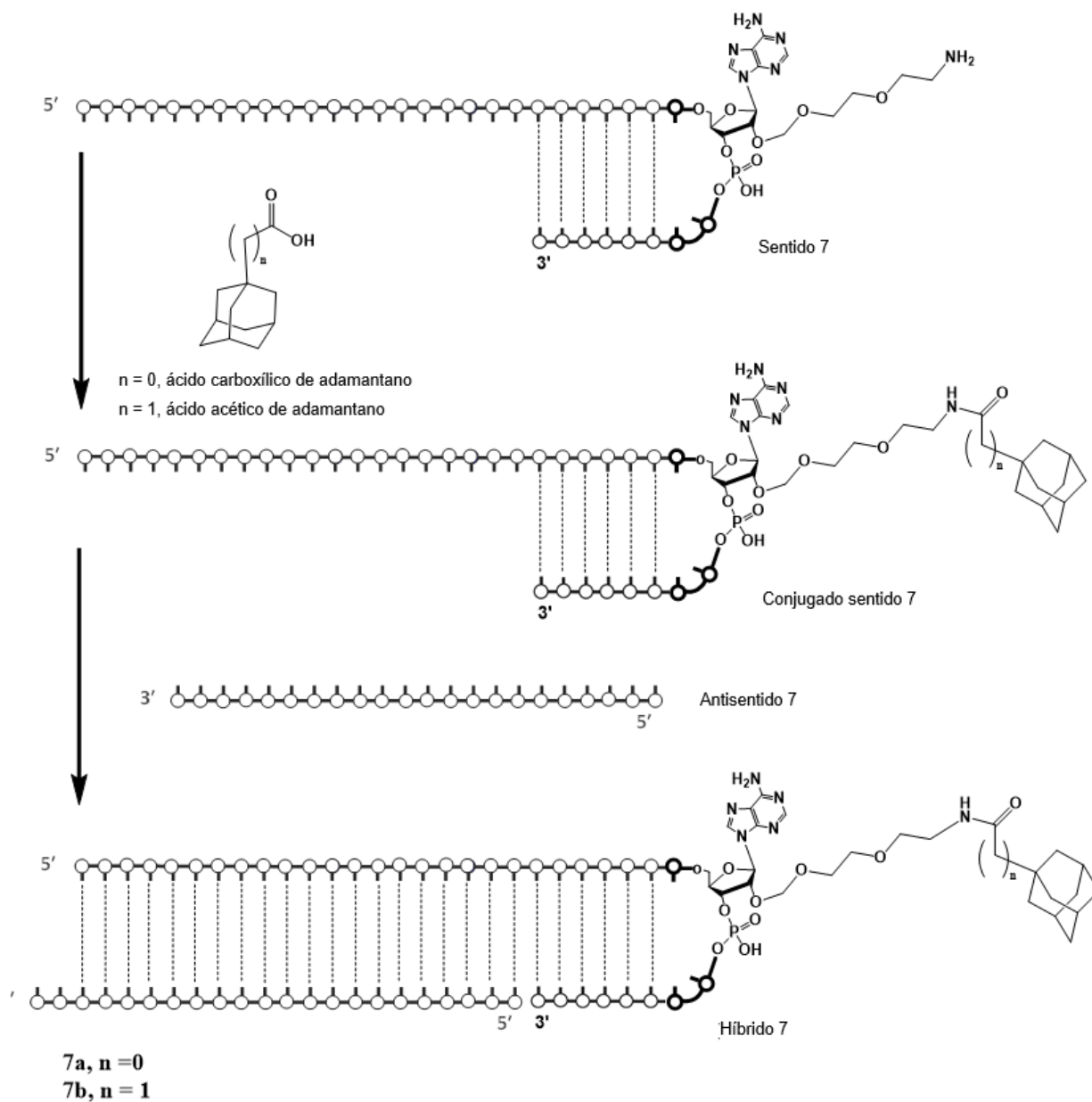
Síntesis del conjugado sentido 6.

El conjugado sentido 6 se preparó mediante síntesis en fase sólida mediante el uso de un sintetizador de oligonucleótidos comercial. Los oligonucleótidos se sintetizaron mediante el uso de nucleósido modificado en 2' con fosforamiditas, tales como 2'-F o 2'-OMe, y nucleósidos fosforamiditas de amida de ácidos grasos unidas a 2'-dietoximetanol. La síntesis de oligonucleótidos se realizó en un soporte sólido en la dirección 3' a 5' mediante el uso de un protocolo estándar de síntesis de oligonucleótidos. En estos esfuerzos, se usó 5-etiltio-1H-tetrazol (ETT) como un activador para la reacción de acoplamiento. Se usó solución de yodo para la oxidación del triéster de fosfito. Se usó 3-(Dimetilaminometilideno)amino-3H-1,2,4-ditiazol-3-tiona (DDTT) para la formación de

enlaces fosforotioato. Los oligonucleótidos sintetizados se trataron con amonio acuoso concentrado durante 10 h. El amoníaco se eliminó de la suspensión y los residuos de soporte sólido se eliminaron mediante filtración. El oligonucleótido crudo se trató con TEAA, se analizó y se purificó mediante cromatografía líquida de alto rendimiento de intercambio aniónico fuerte (SAX-HPLC). Las fracciones se combinaron y se dializaron contra agua (3 X), solución salina (1 X) y agua (3 X) mediante el uso de Amicon® Ultra-15 Centrifugal (3K). El solvente restante se liofilizó para proporcionar el sentido conjugado 6 conveniente.

El híbrido 6 se preparó mediante el uso de los mismos procedimientos como se describió para la hibridación del híbrido 1a (C8).

Esquema 8. Síntesis de GalXC de tetralazo con mella conjugado con una unidad de adamantano en el lazo mediante un enfoque de conjugación postsintético.



N = 0: Ácido carboxílico de adamantano; n = 1: Ácido acético de adamantano

Esquema 1-8

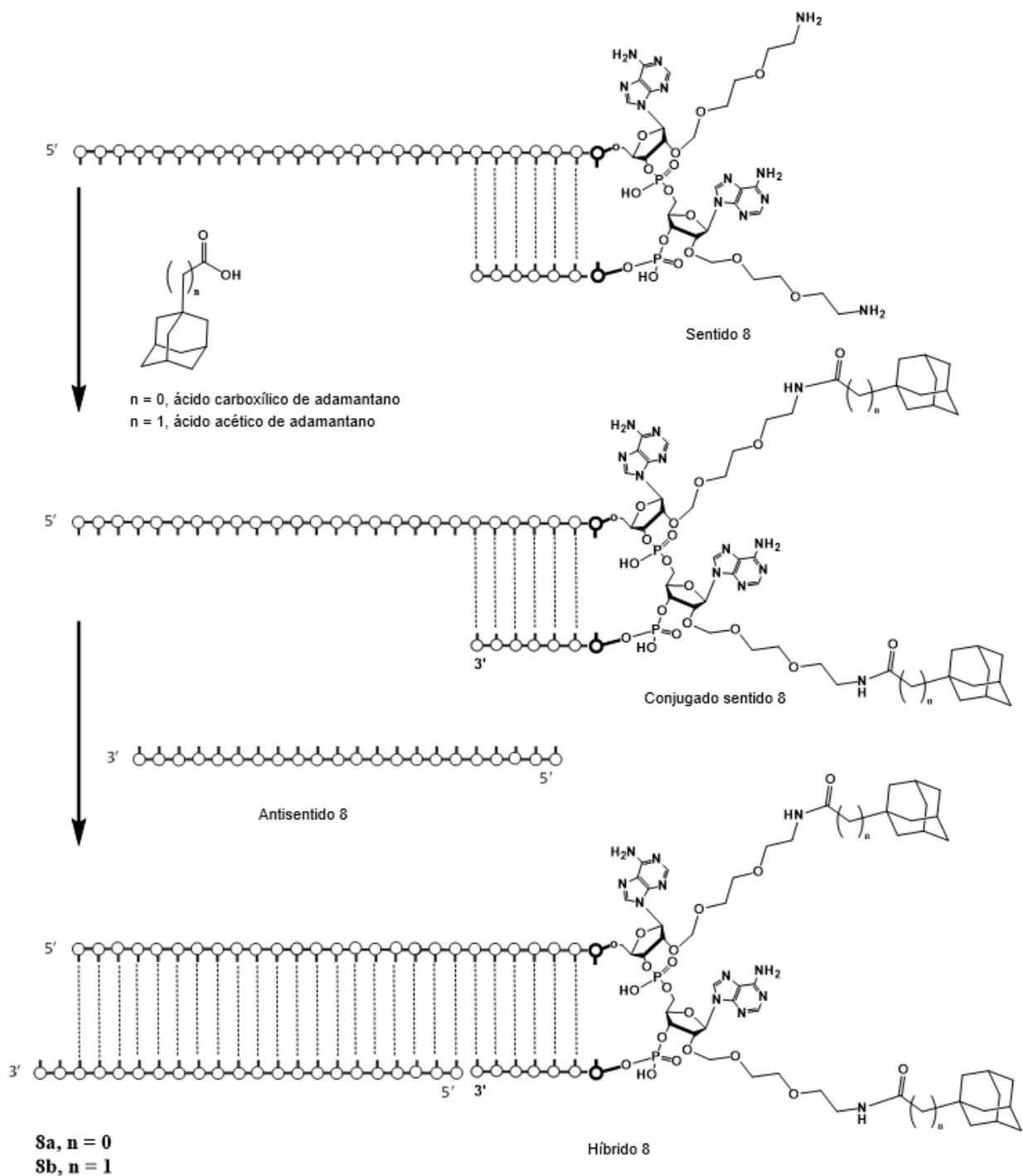
Síntesis de los conjugados sentido 7a y 7b

Los conjugados sentido 7a y sentido 7b se obtuvieron mediante el uso del mismo método o un método sustancialmente similar a la síntesis del conjugado sentido 5.

Ejemplo de síntesis de los híbridos 7a y 7b

El híbrido 7a e híbrido 7b se obtuvieron mediante el uso del mismo método o un método sustancialmente similar a la síntesis del híbrido 5.

Esquema 9. Síntesis de tetralazo con mella GalXC conjugado con dos unidades de adamantano en el lazo mediante un enfoque de conjugación postsintético.



Esquema 1-9

Síntesis de los conjugados sentido 8a y 8b

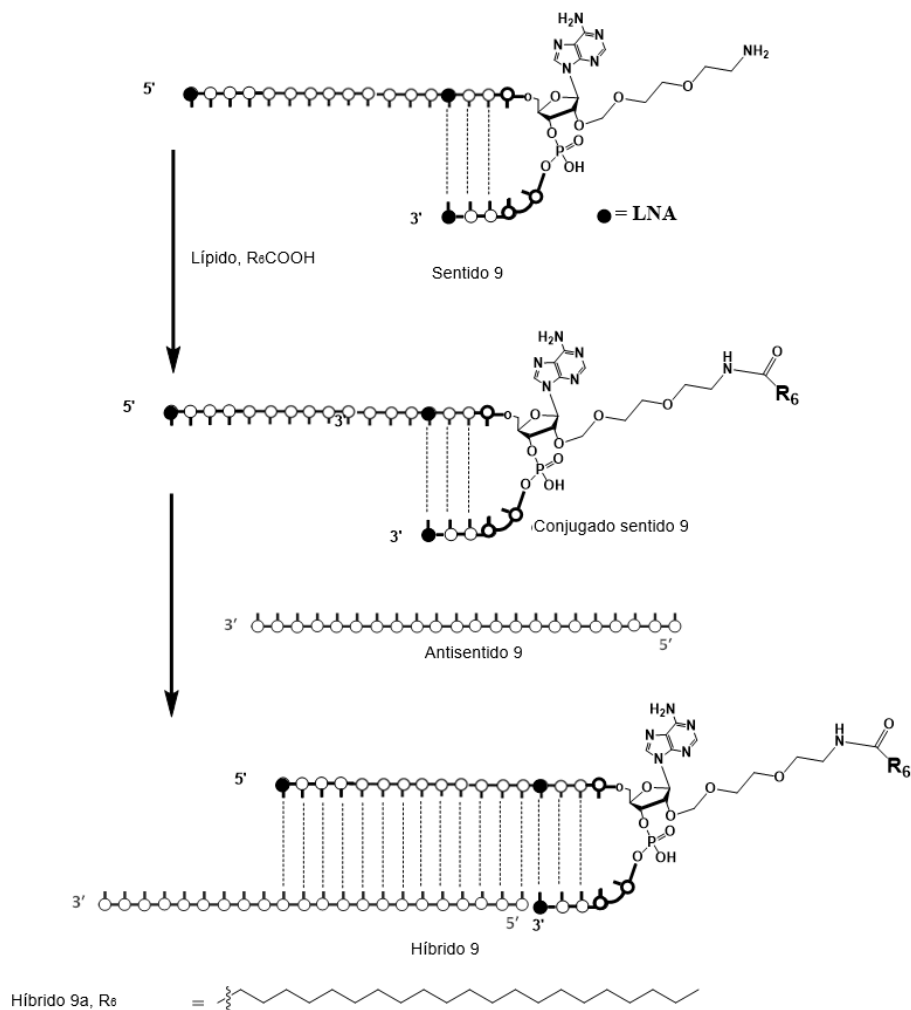
Los conjugados sentido 8a y sentido 8b se obtuvieron mediante el uso del mismo método o

un método sustancialmente similar a la síntesis del conjugado sentido 5.

Ejemplo de síntesis de los híbridos 8a y 8b

El híbrido 8a e híbrido 8b se obtuvieron mediante el uso del mismo método o un método sustancialmente similar a la síntesis del híbrido 5.

El siguiente Esquema 1-10 representa la síntesis de GalXC de sentido corto y estructura de tallo y lazo corto conjugado con monolípidio mediante el uso de un enfoque de conjugación postsintético.



Esquema 1-10

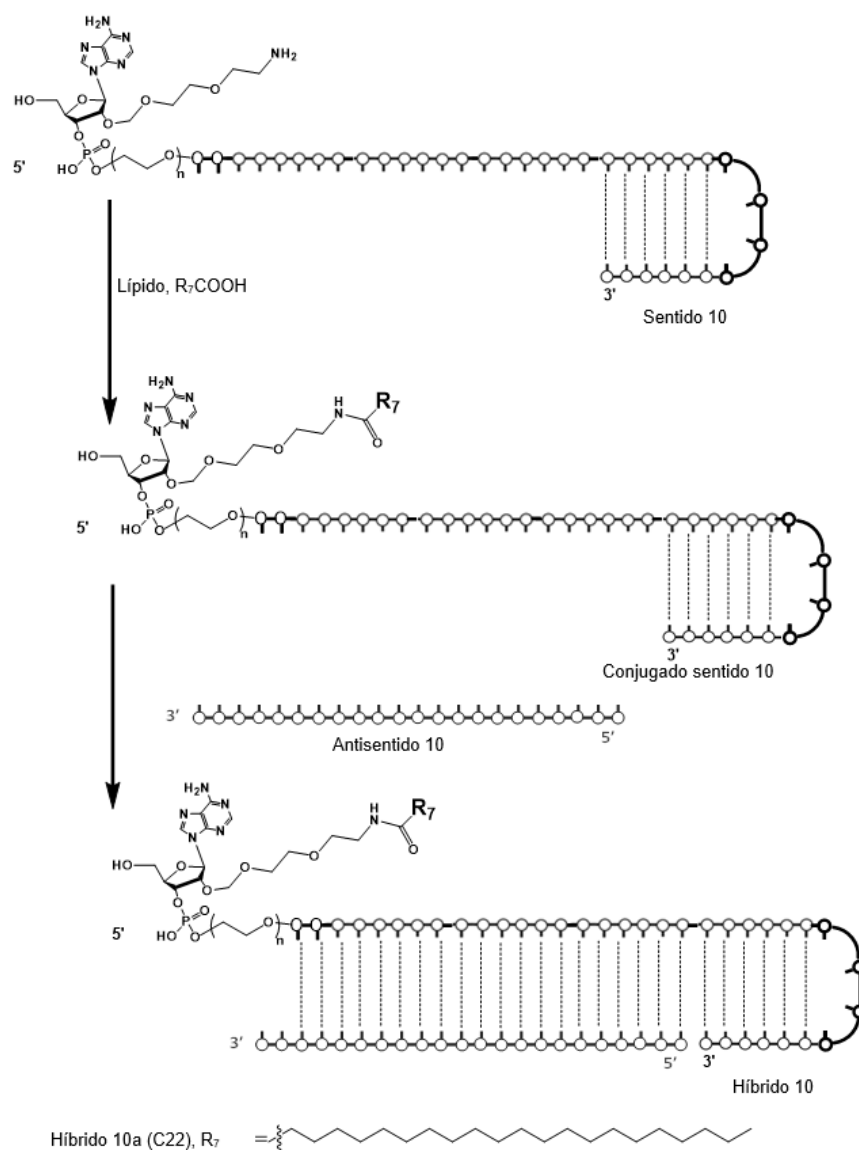
Síntesis del sentido 9a

El conjugado sentido 9a se obtuvo mediante el uso del mismo método o un método sustancialmente similar a la síntesis del conjugado sentido 5.

Ejemplo de síntesis del Híbrido 9a

El híbrido 9a se obtuvo mediante el uso del mismo método o un método sustancialmente similar a la síntesis del híbrido 5.

El siguiente Esquema 1-11 representa la síntesis de GalXC conjugado con monolípido en el extremo 5' mediante el uso de un enfoque de conjugación postsintético.



Esquema 1-11

Síntesis del conjugado sentido 10a

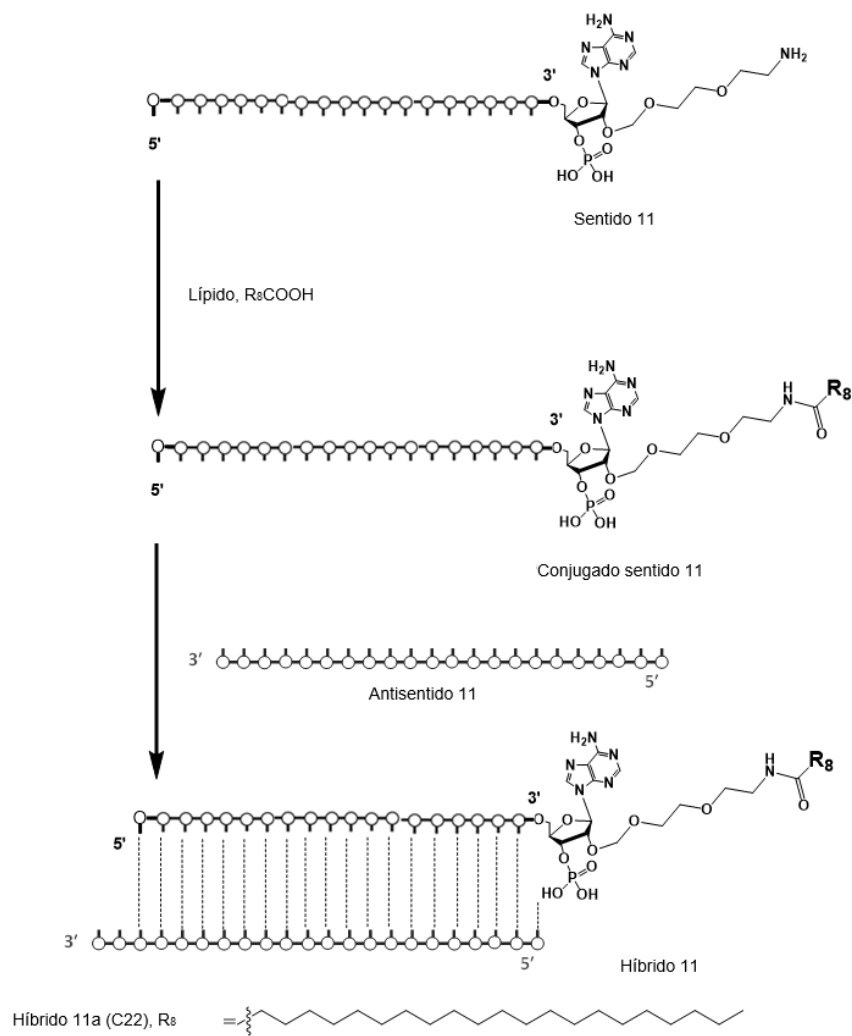
El conjugado sentido 10a se obtuvo mediante el uso del mismo método o un método sustancialmente similar a la síntesis del conjugado sentido 5.

Ejemplo de síntesis del híbrido 10a

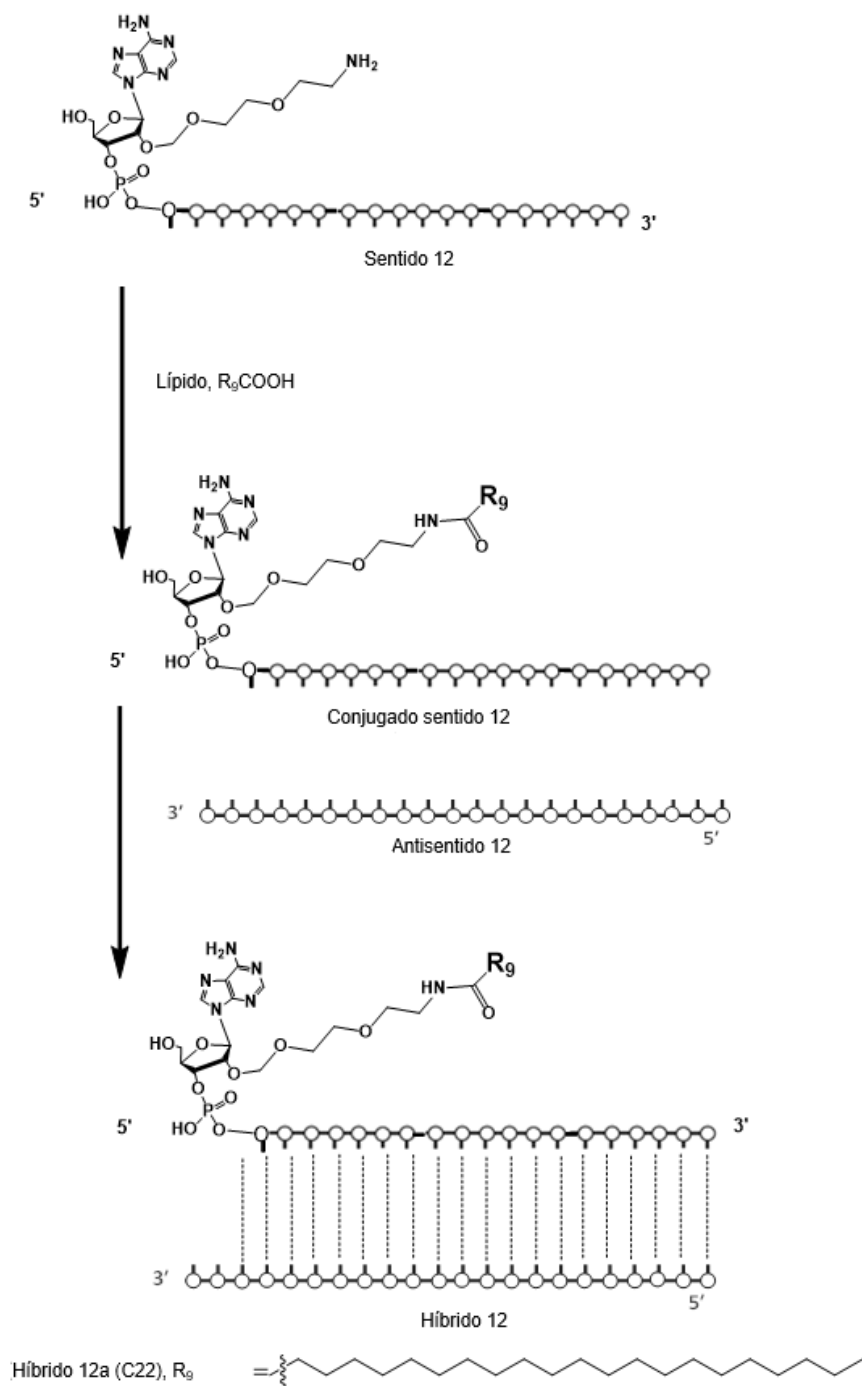
El híbrido 10a se obtuvo mediante el uso del mismo método o un método sustancialmente

similar a la síntesis del híbrido 5.

El siguiente Esquema 1-12a y 1-12b representa la síntesis de GalXC con extremo romo conjugado con monolípido en el extremo 3' o el extremo 5' mediante el uso de un enfoque de conjugación postsintética.



Esquema 1-12a



Esquema 1-12b

Síntesis de los conjugados sentido 11a y 12a

Los conjugados sentido 11a y 12a se obtuvieron mediante el uso del mismo método o un método sustancialmente similar a la síntesis del conjugado sentido 5.

Ejemplo de síntesis de híbrido 11a y 12a

Los híbridos 11a y 12a se obtuvieron mediante el uso del mismo método o un método

sustancialmente similar a la síntesis del híbrido 5.

Los conjugados híbrido 8D e híbrido 9D se obtuvieron mediante el uso del mismo método o un método sustancialmente similar a la síntesis del híbrido 5.

Posteriormente, las cadenas de acilo se conjugaron a una molécula inhibidora de ácido nucleico que se dirige al gen STAT3, un gen que se expresa en los tejidos de interés. Se usó una hebra pasajera con enlazadores de 2'-amina [ademA] para la conjugación de fase sólida posterior. Se conjugaron diferentes tipos de lípidos mediante el uso de la misma química para generar una serie de conjugados (Figura 1A y 1B). Se realizaron estudios de SAR para identificar un conjugado lipídico que podría utilizarse para suministrar cargas útiles a los tejidos de interés con el fin de mediar la inactivación de la diana.

Ejemplo 3: Modelos tumorales *in Vivo* Tumor

Brevemente, se inyectaron ratones inmunodeprimidos (desnudos)/inmunocompetentes (C57BL/6) de 6-8 semanas de edad por vía subcutánea con 2×10^6 células Pan02 (línea celular de cáncer de páncreas de ratón), 2×10^6 células B16F10 (línea celular de melanoma de ratón) o 5×10^6 células LS411N (línea celular de cáncer colorrectal humano) debajo del hombro derecho. Cuando los tumores alcanzaron un volumen de 300-500 mm³, se aleatorizaron en diferentes cohortes y se sometieron a la administración de conjugados lipídicos GalXC. Cada conjugado lipídico GalXC se administró por vía subcutánea a un volumen total de 10 ml/kg. La línea celular pancreática de ratón Pan02 se obtuvo de NCI y la línea celular de melanoma de ratón B16F10 y la línea celular colorrectal humana LS411N se obtuvo de ATCC (Manassas, VA). Todas las células se cultivaron en medio RPMI/DMEM suplementado con FBS al 10 %. Se conoce que los tumores Pan02, B16F10 y LS411N mantienen microentornos tumorales muy supresores o fríos.

Ejemplo 4: Suministro diferencial de conjugados lipídicos GalXC a diferentes componentes del microentorno tumoral

Para dilucidar el suministro diferencial de conjugados lipídicos GalXC, se implantaron tumores de xenoinjerto humano (células LS411N) en ratones desnudos, como se describió en el Ejemplo 3. A aproximadamente dos semanas después del implante, cuando el volumen tumoral alcanzó ~300-400 mm³, los ratones se aleatorizaron en 6 grupos (n=3) y se trataron con una dosis única de solución salina tamponada con fosfato (PBS) o un conjugado GalXC-ALDH2-lípido como se describió en el Esquema 1 del Ejemplo 2

(GalXC-C8, GalXC-C18, GalXC-C18-1, GalXC-C18-2 o GalXC-C22) a 10 mg/kg. Tres días después de la inyección subcutánea, los tumores se recolectaron y se analizaron mediante qPCR para determinar los niveles de ARNm de *ALDH2* humano y *Aldh2* de ratón. En el fragmento de tejido tumoral, los niveles de expresión de ARNm del gen *ALDH2* humano permanecieron al inicio en todos los grupos, sin embargo, los niveles de ARNm de *Aldh2* de ratón se redujeron en ~40-50 % en todos los grupos tratados con conjugados GalXC-ALDH2-lípido, que incluye C18, C18-1, C18-2 y C22, excepto C8 en comparación con el control de PBS (Figuras 2A y 2B). Estos datos sugieren que los conjugados GalXC-ALDH2-lípido no mediaron el suministro de ARNip y la inactivación de la diana en el epitelio tumoral humano, sino que mediaron el suministro de ARNip a componentes en el microentorno tumoral para facilitar la inactivación de la diana. Para confirmar aún más esta observación, se realizó un estudio de seguimiento con el mismo tipo de tumor. Los tumores de xenoinjerto humano LS411N se implantaron en ratones desnudos, como se describió anteriormente. Después de la aleatorización en 12 grupos, el conjugado de GalXC-ALDH2-C22 a 10, 25 y 50 mg/kg y el control de PBS, los ratones se trataron con una única dosis subcutánea del artículo de prueba en consecuencia.

Tabla 2: Moléculas de herramientas ALDH2 de conjugado lipídico GalXC

Oligo	DP #	Tipo de secuencia	SEQ de las Hebras sentido ID NO	Hebra antisentido SEQ ID NO	Conjugado
GalXC-ALDH2-C18	DP15543P:D P11674G	Sin modificar	1	2	C18
		Modificado	3	4	C18
GalXC-ALDH2-C22	DP15545P:D P11674G	Sin modificar	5	6	C22
		Modificado	7	8	C22

La respuesta a la dosis y la duración de la actividad se determinaron midiendo los niveles de ARNm de *Aldh2/ALDH2* de ratón y humano en los días 3, 7 y 14 después del tratamiento. En paralelo, la actividad de GalXC-ALDH2-C22 en ratones no portadores de tumor también se investigó a un nivel de dosis de 25 mg/kg los días 3 y 14 después del tratamiento (Figura 4B). Como se observó anteriormente, no se observó una inactivación de la diana en el parénquima epitelial tumoral humano a ningún nivel de dosis, que incluye la dosis alta de 50 mg/kg (Figura 3A). Sin embargo, se observó una robusta inactivación del

ARNm de *Aldh2* en el tejido hospedero de ratón (microentorno tumoral) (Figura 3B). Se observó la concentración mínima para la inactivación del ARNm en el TME murino una semana después de la dosis. Se observó que la ED₅₀ en el valor mínimo estaba entre 10 y 25 mg/kg con una reducción máxima superior al 75 %. Se mantuvo una robusta inactivación del ARNm durante al menos dos semanas después de la dosis. En el mismo estudio, los ganglios linfáticos que drenan el tumor (axilares e inguinales) de los ratones también se recolectaron y analizaron mediante qPCR para determinar los niveles de ARNm de *Aldh2* de ratón. Como se demuestra en la Figura 4A, se observó una actividad potente y duradera independientemente del nivel de dosis. Se determinó que la DE₅₀ en los ganglios linfáticos que drenan el tumor (TdLN) era <10 mg/kg. La ausencia de una respuesta relacionada con la dosis sugiere que hubo saturación de la actividad incluso al nivel de dosis más bajo de GalXC-ALDH2-C22. La Figura 4B muestra que no se observó la inactivación de la diana en los ganglios linfáticos (LN) de ratones no portadores de tumor tratados con GalXC-ALDH2-C22. Sin estar limitado por la teoría, es posible que la falta de actividad en los LN de control sugiera que la actividad demostrada en el TdLN está mediada por el tumor y que el conjugado de GalXC-ALDH-C22 obtuvo acceso a los LN a través del drenaje linfático tumoral. Para examinar si también se observó la inactivación de la diana en diferentes tipos de ganglios linfáticos en ratones portadores de tumor, los ganglios linfáticos que no drenan el tumor (LN en el lado opuesto del cuerpo al TdLN), también se recolectaron y se analizaron para determinar los niveles de ARNm diana en los 3 puntos temporales. Como se muestra en la Figura 5A, los niveles de ARNm diana en el no TdLN se redujeron un 20 % el día 3, un 50 % el día 7 y alcanzaron el mismo nivel (60 %) de reducción que se observó en el TdLN el día 14. El nivel de características inmunodepresoras de las poblaciones celulares se evaluó mediante la determinación de la relación de marcadores de ARNm *CD11b* y *Pdl1* en una población celular dada. En este experimento, se encontró que la relación de ARNm murino de estos marcadores era significativamente menor en el no TdLN en comparación con el TdLN el día 14 (Figura 5B), lo que sugiere que la población celular presente en el TdLN es más supresora que la población celular presente en el no TdLN.

Ejemplo 5: Los conjugados lipídicos GalXC median la inactivación de la diana en células mieloides asociadas a tumores

Las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) son una población heterogénea de células que se expanden durante la tumorigénesis y que tienen la notable capacidad de suprimir las respuestas de los linfocitos T. En conjunto, las MDSC se caracterizan por la coexpresión de marcadores de superficie celular o ARNm CD11b (un marcador para las células mieloides del linaje de macrófagos) y Gr-1 (un marcador para el antígeno de diferenciación del linaje mielóide) y se denotan como células CD11b⁺Gr-1⁺. Gr-1 se compone además por 2 componentes Ly6G y Ly6C. Las MDSC consisten en dos subconjuntos: MDSC granulocítica (G-MDSC), caracterizada además como CD11b⁺Ly6G⁺Ly6C^{lo}, y MDSC monocítica (M-MDSC) caracterizada como CD11b⁺Ly6G⁻Ly6C^{hi}. Para dilucidar las poblaciones celulares susceptibles a la inactivación de la diana mediada por conjugados lipídicos de GalXC en tejido hospedero de ratón, específicamente para investigar la inactivación de la diana en las CD11b⁺ MDSC del TME, se implantaron tumores de xenoinjerto humano LS411N en ratones desnudos como se describió en el Ejemplo 3. Después de la aleatorización, los ratones se trataron con una dosis única de conjugado de GalXC-ALDH2-C22 a 25 mg/kg o PBS. A los 3 días después de la dosis, las células CD11b⁺ del hospedero murino (células supresoras de origen mielóide o MDSC) y las células tumorales humanas se aislaron de suspensiones unicelulares de tumores mediante métodos de separación magnética positivos y negativos, respectivamente, mediante el uso de la tecnología de separación MACS (Miltenyi Biotec Inc, Auburn, CA). Para aislar las células CD11b positivas, se realizó una suspensión celular única del tumor mediante el uso de un disociador suave de MACS. Las células CD11b positivas en la suspensión celular única se etiquetaron magnéticamente con microesferas MACS y se enriquecieron al pasar a través de columnas MACS y posteriormente se eluyeron las células etiquetadas retenidas en la columna como fracciones seleccionadas positivamente (CD11b MicroBeads UltraPure, kit de ratón núm. de cat. 130-126-725). Para la separación de las células tumorales, las células no diana en la suspensión celular se etiquetaron magnéticamente con un cóctel de microesferas y se pasaron a través de las columnas MACS. Durante este proceso, las células etiquetadas no deseadas se retuvieron en la columna y las células diana no etiquetadas (células tumorales) se recolectaron en el flujo continuo como fracción pura. (Kit de aislamiento de células tumorales, núm. de cat. humano 130-108-339). Las células CD11b⁺ también se aislaron de las suspensiones

celulares únicas de bazo de ratones normales para comparar la actividad supresora de las poblaciones CD11b⁺ de diferentes tipos de tejido. Suponiendo una expresión de *Aldh2* comparable entre los tipos celulares, se demostró que las preparaciones de MDSC CD11b⁺ eran >90 % puras. Después del aislamiento de la población de células inmunitarias, se midieron los niveles de ARNm de *CD11b* y *Arg1* (marcadores que caracterizan las capacidades de inmunosupresión) en ambas poblaciones y se determinaron los niveles relativos. En este análisis, el ARNm de *CD11b* se estableció al 100 % en subpoblaciones de tumor y bazo. Aunque *Arg1* se expresó altamente en MDSC aisladas, no se expresó (Ct >35) en células mieloides del bazo mediante el uso del mismo protocolo de separación por afinidad, lo que sugiere que las MDSC en TME tienen altas capacidades de supresión inmunitaria en comparación con otras células de origen mieloides, ya que este es uno de los mecanismos que las MDSC usan para inactivar los linfocitos T tumorales para suprimir las respuestas inmunitarias antitumorales (Figura 6). Para determinar si se observó la reducción de la diana mediada por GalXC-ALDH2-C22 en las células CD11b⁺ aisladas y/o células tumorales, se realizó qPCR y se determinaron los niveles de ARNm de *Aldh2/ALDH2*. Como se demuestra en las Figuras 7A y 7B, se observó una reducción de la diana de aproximadamente el 42 % en células CD11b⁺ aisladas, sin embargo, no se observó una reducción de la diana en las células tumorales aisladas. Estos datos confirman la observación realizada anteriormente en los datos recogidos de muestras de fragmentos tumorales.

Ejemplo 6: Uso de SAR para identificar un conjugado lipídico GalXC favorable para suministro de ARNip al microentorno tumoral y a los ganglios linfáticos que drenan el tumor

Para identificar un conjugado lipídico con las propiedades más favorables para suministrar carga útil y mediar la reducción de la diana con la mayor selectividad a las células mieloides en el TME, se generaron una serie de conjugados lipídicos GalXC como se demostró en el Esquema 1 (C16, C18, C22 y C24). Para investigar estos artículos de prueba, se implantaron células tumorales Pan02 de páncreas murino en ratones desnudos. Cuando los tumores alcanzaron un volumen de 300-400 mm³, los ratones se aleatorizaron en grupos y se trataron con una dosis única de PBS o con un conjugado lipídico GalXC (C16, C18, C22 y C24) a 25 mg/kg. La reducción de la diana se evaluó el día 3 en el

fragmento tumoral y en el hígado (Figuras 8A y 8B) para identificar un lípido GalXC un conjugado con selectividad hacia el tejido diana (MDSC) en comparación con el tejido hepático normal. El día 3 después de la dosis, los niveles de ARNm de *Aldh2* en los tumores de todos los grupos de tratamiento se redujeron en un grado similar. Se observó una tendencia en los niveles de *Aldh2* en los hígados de los grupos de conjugados GalXC-ALDH2-lípido de una correlación de la longitud de la cadena de acilo lipídico más alta con la reducción de la diana (C24>C22>C18>C16), lo que sugiere que estos conjugados pueden usar diferentes mecanismos para el tráfico al TME en comparación con el hígado. Dado que los conjugados de cadenas de acilo lipídicas más cortas C16 y C18 parecen ser más escasos en el hígado sin comprometer la actividad del TME, en comparación con los conjugados de cadenas de acilo más largos C22 y C24, los conjugados lipídicos C16/C18 se exploraron más en un estudio separado para caracterizar más su actividad. Los ratones portadores de tumor Pan02 se trataron con una única dosis subcutánea de GalXC-ALDH2-C16 o GalXC-ALDH2-C18 a 25 mg/kg, o PBS y la actividad se monitoreó en un fragmento de tejido tumoral y en TdLN los días 7 y 14. Como se muestra en las Figuras 8C y 8D, el conjugado de C18 superó a C16 en la inactivación de la diana en el fragmento tumoral en ambos puntos temporales. Aunque ambos artículos de prueba mostraron actividad similar en TdLN el día 7, la actividad mediada por el conjugado de C16 se redujo significativamente el día 14, mientras que la actividad mediada por C18 se mantuvo. A partir de estos datos, se seleccionó el conjugado GalXC-ALDH2-C18 para estudios posteriores.

Ejemplo 7: Diferencias en el inicio de la actividad y la dependencia de la dosis en los subconjuntos de células supresoras de origen mieloide

Aunque se ha demostrado que los conjugados GalXC-ALDH2-lípido median el suministro y silencian el gen *Aldh2* en células CD11b⁺, es fundamental determinar si la inactivación está mediada en cualquiera de los tipos de células o en ambos subconjuntos de células. Dado que estos subconjuntos de población celular usan diferentes mecanismos para ejercer actividad inmunosupresora, es importante identificar en qué poblaciones celulares muestran actividad los conjugados lipídicos GalXC para identificar las dianas terapéuticas adecuadas. Como se demostró en la literatura, la señalización a través del GM-CSF junto con STAT3 o STAT5 desempeña un papel clave en el reclutamiento de las MDSC granulocíticas (G-MDSC) para el TME y está muy implicada en su expansión y supresión

al aumentar los receptores FATP2 (SLC27A2; gen que codifica FATP2) en G-MDSC y permite la captación eficiente de ácidos grasos de cadena larga de acuerdo con los hallazgos recientes (Veglia y otros, NATURE (2019) 569:73–78(2019), uno de los ácidos grasos, el ácido araquidónico, cuando se metaboliza a PGE₂ mediante la enzima COX-2 (gen que codifica la COX-2; PTGS2), participa en la supresión de los linfocitos T. Las MDSC monocíticas (M-MDSC), por otro lado, también se reclutan en el TME desde la médula ósea, donde se vuelven supresores. Se conoce que las M-MDSC tienen una expresión más alta del nivel de receptores de tráfico lipídico tales como SCARB1 y LDLR que probablemente estén implicados en la captación de lípidos. Una vez que cada uno de los subconjuntos de células mieloides se vuelve supresor, expresan en gran medida marcadores asociados a la supresión tales como ARG1, TGFβ, IDO, ROS y muchos otros.

Para determinar si los conjugados lipídicos GalXC median la inactivación en células G-MDSC o M-MDSC o en ambas, se usó el método de separación magnética suave MACS para aislar estas células como se describe para la separación de células CD11b. Como se describió anteriormente, se realizó una suspensión celular única de tumor mediante el uso de un disociador suave de MACS. A continuación, la fracción Ly-6G⁺ (o G-MDSC) se aisló de la suspensión celular única se etiquetaron magnéticamente las células Ly6G⁺ con microesferas MACS y se pasó a través de columnas MACS y posteriormente se eluyeron las células etiquetadas como fracciones seleccionadas positivamente. Para la separación de M-MDSC (Ly6G⁻Gr-1⁺), las células Gr-1⁺ presentes en el flujo restante después de la separación de Ly6G se etiquetaron magnéticamente con microesferas MACS y se pasaron a través de columnas MACS para aislar la fracción pura mediante selección positiva (Miltenyi Biotec Inc, Auburn CA, kit MDSC núm. de cat. 130-094-538). A través de múltiples etapas de selección positivas y negativas, se aislaron subpoblaciones MDSC puras. Estas poblaciones aisladas se caracterizaron midiendo múltiples marcadores clave que se expresan cuando las G-MDSC se diferencian de las M-MDSC como se demuestra en las Figuras 9 y 10. Los marcadores de ARNm *Ly6G*, *Cxcr2*, *Slc27a2* y *Ptgs2* se expresan preferentemente por las G-MDSC y no por las M-MDSC. La expresión de marcadores específicos tales como *Cxcr2*, *Slc27a2* y *Ptgs2* sugiere la actividad de reclutamiento y supresión de las G-MDSC en el TME. Igualmente, los marcadores de ARNm *Ly6C*, *Scarb1*, *Ldlr* y *Arg1* se expresan altamente por las M-MDSC (Figuras 11 y 12) en

comparación con las G-MDSC. Una mayor expresión de los receptores de tráfico lipídico tales como *Scarb1* y *Ldlr* en las M-MDSC puede desempeñar un papel clave en la captación de lípidos. Se encontró que estos perfiles de marcadores de ARNm de subpoblaciones celulares aisladas eran coherentes con la bibliografía.

Para identificar en qué poblaciones celulares puede mediar la inactivación, los tumores Pan02 se cultivaron en ratones desnudos como se describió en el Ejemplo 3. Después de la aleatorización en grupos de tratamiento, los ratones recibieron una dosis única de GalXC-ALDH2-C18 a 25 mg/kg o un control de PBS. A los 3 días después del tratamiento, se recolectaron tumores y se aislaron las poblaciones de G-MDSC y M-MDSC. Se usó qPCR para determinar los niveles de ARNm diana. A este nivel de dosis, se observó una inactivación del ARNm de ~40 % de *Aldh2* solo en el subconjunto de G-MDSC y no en el subconjunto de M-MDSC. Se realizó un estudio de seguimiento realizado de la misma manera con un modelo tumoral diferente, B16F10 (tumor de melanoma murino) para evaluar el patrón de inactivación de la diana entre los tipos de tumores. Los tumores B16F10 se implantaron en ratones desnudos como en el Ejemplo 3 y cuando los tumores alcanzaron un volumen de ~300 mm³ de tamaño, los ratones se aleatorizaron en grupos de tratamiento y se trataron con una dosis única del conjugado de GalXC-ALDH2-C18 a 25 mg/kg, o PBS. A los 3 días después del tratamiento, los niveles de ARNm se analizaron como se describió anteriormente. Como se muestra en las Figuras 13A y 13B, se observó la inactivación de *Aldh2* solo en las G-MDSC recolectados de tumores Pan02 y B16F10. Para comprender mejor cómo el nivel de dosis del conjugado lipídico de GalXC desempeña un papel en el suministro, la dosis más alta de 50 mg/kg se incluyó en ratones portadores de tumor Pan02 y se monitoreó la inactivación de la diana en los días 3 y 7. Como se muestra en la Figura 13C, a una dosis más alta, la inactivación de la diana en la población con G-MDSC se mantuvo igual que la inactivación observada con 25 mg/kg. Además, también se observó una inactivación de aproximadamente el 50 % en el subconjunto de M-MDSC. La actividad en cada subconjunto de células se mantuvo durante una semana después de la dosis (Figura 13D) lo que sugiere que el suministro podría estar sucediendo primero a las G-MDSC, probablemente a través de los receptores FATP2, y una vez que esa población está saturada, el suministro cambia a las M-MDSC (a través de *Scarb1* y *Ldlr*) para mediar la inactivación en este tipo de células. Esto sugiere que el inicio de la actividad y la

dependencia de la dosis pueden ser diferentes entre estos dos subconjuntos de células MDSC.

Ejemplo 8: Dianas específicas de tejido en poblaciones de células MDSC y ganglios linfáticos que drenan el tumor.

Los datos anteriores demuestran que los dos subconjuntos de MDSC median la inmunosupresión a través de diferentes mecanismos. Aunque CXCR2, SCL27A2 y PTGS2 se identifican como dianas potenciales específicas en las G-MDSC, y PD-L1 sería una diana más específica para las células que residen en el TdLN, hay pocas dianas que se expresan tanto en los subconjuntos de células MDSC en el TME como en los tipos de células que residen en el TdLN. STAT3 es una diana de este tipo que se expresa en todos los tejidos de interés (es decir, células tumorales y células inmunitarias en el microentorno tumoral). La expresión de STAT3 se midió en tumores Pan02 (Figuras 14A-14C). STAT3 participa en la inmunosupresión con ejemplos abundantemente notificados en la literatura. El direccionamiento a la transcripción de *STAT3* a través de un mecanismo de ARNi podría sobreponerse potencialmente los desafíos en el desarrollo de inhibidores farmacológicos de STAT3. Por estos motivos, se seleccionó STAT3 como diana de prueba de concepto para demostrar la actividad específica del tejido en los tejidos de interés. Las secuencias *STAT3* se diseñaron en el formato GalXC con patrones de modificación descritos y la selección de la inactivación de la diana en tejido hepático se realizó en ratones CD-1 normales. Dieciocho conjugados STAT3-GalXC (Tabla 3) se administraron una vez por vía subcutánea a 3 mg/kg.

Tabla 3: Candidatos a compuestos GalXC para identificar compuestos de herramientas para estudios de prueba de concepto en ratones:

Oligo	DP #	Tipo de secuencia	SEQ de las Hebras sentido ID NO	SEQ de las Hebras antisentido ID NO	Conjugado
GalXC-STAT3-838	DP21679P: DP21678G	Sin modificar	9	10	GalNAc
		Modificado	11	12	GalNAc
GalXC-STAT3-1390	DP21697P: DP21696G	Sin modificar	13	14	GalNAc
		Modificado	15	16	GalNAc
GalXC-STAT3-1394	DP21677P: DP21676G	Sin modificar	17	18	GalNAc
		Modificado	19	20	GalNAc
GalXC-STAT3-	DP21691P:	Sin modificar	21	22	GalNAc

1398	DP21690G	Modificado	23	24	GalNAc
GalXC-STAT3-1399	DP21671P: DP21670G	Sin modificar	25	26	GalNAc
		Modificado	27	28	GalNAc
GalXC-STAT3-1400	DP21673P: DP21672G	Sin modificar	29	30	GalNAc
		Modificado	31	32	GalNAc
GalXC-STAT3-1401	DP21687P: DP21686G	Sin modificar	33	34	GalNAc
		Modificado	35	36	GalNAc
GalXC-STAT3-1402	DP21675P: DP21674G	Sin modificar	37	38	GalNAc
		Modificado	39	40	GalNAc
GalXC-STAT3-1759	DP21701P: DP21700G	Sin modificar	41	42	GalNAc
		Modificado	43	44	GalNAc
GalXC-STAT3-2029	DP21689P: DP21688G	Sin modificar	45	46	GalNAc
		Modificado	47	48	GalNAc
GalXC-STAT3-2034	DP21693P: DP21692G	Sin modificar	49	50	GalNAc
		Modificado	51	52	GalNAc
GalXC-STAT3-2448	DP21699P: DP21698G	Sin modificar	53	54	GalNAc
		Modificado	55	56	GalNAc
GalXC-STAT3-2527	DP21695P: DP21694G	Sin modificar	57	58	GalNAc
		Modificado	59	60	GalNAc
GalXC-STAT3-4107	DP21683P: DP21682G	Sin modificar	61	62	GalNAc
		Modificado	63	64	GalNAc
GalXC-STAT3-4110	DP21669P: DP21668G	Sin modificar	65	66	GalNAc
		Modificado	67	68	GalNAc
GalXC-STAT3-4123	DP21667P: DP21666G	Sin modificar	69	70	GalNAc
		Modificado	71	72	GalNAc
GalXC-STAT3-4435	DP21685P: DP21684G	Sin modificar	73	74	GalNAc
		Modificado	75	76	GalNAc
GalXC-STAT3-4474	DP21681P: DP21680G	Sin modificar	77	78	GalNAc
		Modificado	79	80	GalNAc

Clave de modificación para la Tabla 3

Símbolo	Modificación/enlace
mX	Nucleótido modificado con 2'-O-metilo
fX	Nucleótido modificado con 2'-flúor
enlace -S-	enlace fosforotioato
-	enlace fosfodiéster
[MeFosfonato-4O-mX]	nucleótido modificado con 4'-O-monometilfosfonato-2'-O-metilo
ademX-GalNAc	2'-aminodietoximetanol-nucleótido-GalNAc (nucleótido conjugado con GalNAc)

Cinco días después de la inyección, se recolectaron los hígados y se sometieron a análisis

de ARNm mediante qPCR. Como resultado de la selección, se seleccionaron cuatro secuencias (GalXC-STAT3-838, GalXC-STAT3-1402, GalXC-STAT3-4110 y GalXC-STAT3-4123) que mostraron >85 % de reducción de la diana en el hígado para una evaluación adicional (Figura 15A). De estas secuencias, tres se identificaron como específicas de ratón y una se identificó como que tiene reactividad cruzada humana-ratón. Estas 4 secuencias se examinaron adicionalmente en ratones CD-1 a 3 dosis diferentes (0.3, 1 y 3 mg/kg) para evaluar la respuesta a la dosis. GalXC-STAT3-4110 y 4123 se identificaron como las secuencias más potentes después de la detección de respuesta a la dosis, cada una con ED₅₀ de 0.3 mg/kg y, por lo tanto, estas moléculas se seleccionaron para estudios posteriores (Figura 15B). La conjugación lipídica de C18 se realizó tanto para GalXC-STAT3-4110 como para 4123 para estudios de prueba de concepto (Tabla 4).

Tabla 4: Conjugados lipídicos GalXC-STAT3

SEQ ID	Oligonucleótido	Tipo de secuencia	Ligando
81	GalXC-STAT3-4110-C18	Hebra sentido modificada	C18
82		Hebra antisentido modificada	C18
83	GalXC-STAT3-4123-C18	Hebra sentido modificada	C18
84		Hebra antisentido modificada	C18

Tabla 5: Conjugados lipídicos GalXC-STAT3

Oligo	Tipo de secuencia	Hebra sentido SEQ ID NO	SEQ de las Hebras antisentido ID NO	Conjugado
GalXC-STAT3-4110-C18	Sin modificar	65	66	C18
	Modificado	67	68	C18
GalXC-STAT3-4123-C18	Sin modificar	69	70	C18
	Modificado	71	72	C18

Clave de modificación para las tablas 2, 4 y 5

Símbolo	Modificación/enlace
mX	Nucleótido modificado con 2'-O-metilo
fX	Nucleótido modificado con 2'-flúor
enlace -S-	enlace fosforotioato
-	enlace fosfodiéster
[MeFosfonato-4O-mX]	nucleótido modificado con 4'-O-monometilfosfonato-2'-O-metilo
ademX-C#	Cadena hidrocarbonada unida al nucleótido 2'-aminodietoximetanol (Conjugado lipídico unido a un nucleótido (por ejemplo, C16 o C18))

Para evaluar el rendimiento de los conjugados GalXC-STAT3-C18, los tumores Pan02 se implantaron en ratones desnudos y, al alcanzar un volumen tumoral suficiente, los ratones se sometieron a aleatorización como se describió anteriormente. Los ratones recibieron una dosis única de GalXC-STAT3-C18 4110 y 4123 por vía subcutánea a 25 mg/kg, 50 mg/kg o PBS. A los 3 días después de la inyección, se recolectaron los fragmentos tumorales. Los subconjuntos de MDSC se aislaron como se describió en el Ejemplo 5 y el ARNm diana se analizó mediante qPCR (Figuras 16A y 16B). Los niveles de ARNm de *Stat3* se redujeron en ~40 % en G-MDSC y M-MDSC mediante GalXC-STAT3-C18-4123. GalXC-STAT3-C18-4110 redujo los niveles de ARNm de *Stat3* solo en un 20 % en ambos subconjuntos de MDSC. Cabe señalar que los niveles de *Aldh2* se redujeron solo en G-MDSC mediante los conjugados lipídicos GalXC-ALDH2 en la dosis y el punto temporal dados y el nivel de reducción fue comparable a la reducción de los niveles de *Stat3* en G-MDSC que se observaron en el experimento actual. Los niveles de *Stat3* en los M-MDSC se redujeron después de GalXC-STAT3-C18 en comparación con la ausencia de reducción de los niveles de *Aldh2* en los M-MDSC después GalXC-ALDH2-lípido. Los niveles de expresión de *Aldh2* generales más altos en M-MDSC en comparación con los niveles de *Stat3* pueden explicar la diferencia en la actividad.

Para comprender cómo el nivel de dosis de los conjugados GalXC-STAT3-C18 desempeña un papel en el tráfico de estas moléculas a diferentes tejidos y subconjuntos celulares, se realizó un estudio de seguimiento como se describió anteriormente con el mismo modelo de tumor. Los ratones portadores de tumor Pan02 se trataron con una única dosis subcutánea

de GalXC-STAT3-C18-4123 a 50 mg/kg, o los niveles de ARNm de PBS y *Stat3* se midieron después de 3 días. La reducción de *Stat3* en G-MDSC no se modificó significativamente en comparación con la reducción observada a la dosis de 25 mg/kg; sin embargo, se observó una mejora significativa en el silenciamiento de *Stat3* en el subconjunto de M-MDSC a este mismo nivel de dosis. En un estudio paralelo realizado como se describió anteriormente, se evaluó la reducción de *Stat3* en fragmentos tumorales y TdLN el día 7 (Figuras 17A y 17B). Se observó la inactivación del ARNm de *Stat3* dependiente de la dosis en fragmentos tumorales con ambas secuencias de GalXC-STAT3-C18. En los TdLN, los niveles de ARNm de *Stat3* se redujeron en ~60-65 % mediante GalXC-STAT3-C18-4123, ~25-30 % mediante GalXC-STAT3-C18-4110 a ambas dosis, lo que sugiere un efecto de saturación a estos niveles de dosis. En base a los datos, se seleccionó GalXC-STAT3-C18-4123 para evaluaciones de eficacia adicionales en ratones inmunocompetentes.

Ejemplo 9: La inhibición de STAT3 disminuye los niveles de PD-L1 en las MDSC y media los efectos tumorales agudos

La firma transcripcional de STAT3 fosforilado se ha correlacionado positivamente con la expresión de PD-L1 en tumores (Song y otros, JOURNAL OF CELL PHYSIOLOGY (2020), Zerdas y otros, CANCERS (2019), Song y otros, BLOOD (2018). Para extrapolar esta correlación a STAT3 expresada por MDSC, se analizaron poblaciones aisladas de MDSC tratadas con PBS o un conjugado GalXC-STAT3 para determinar el ARNm de *Pdl1*. Los niveles de ARNm de *Pdl1* disminuyeron en ~80 % tanto en las poblaciones de G-MDSC como de M-MDSC tratadas con 25 o 50 mg/kg de un GalXC-STAT3 (Figura 18A). Los niveles de *Pdl1* también se redujeron drásticamente en TdLN después del tratamiento con el conjugado GalXC-STAT3, específicamente GalXC-STAT3-C18-4123 (Figura 18B). Estos datos sugieren un potencial de inmunomodulación aguas abajo de PD-L1 después de la inactivación de STAT3.

En un estudio separado, un Pan02 (modelo singénico pancreático murino) de ratones C57BL/6 portadores de tumor (n = 4 por grupo) se trataron por vía subcutánea con un conjugado GalXC-STAT3-C18 siguiendo un modelo de dosificación dividida en el que todos los animales recibieron una dosis total de 50 mg/kg, dosificada en 25 mg/kg x 2 dosis o 12.5 mg/kg x 4 dosis. Los tumores tratados con la dosis dividida de 25 mg/kg mostraron

regresión tumoral aguda, incluso después de la primera dosis (Figura 19B). Después de la segunda dosis de 25 mg/kg, los tumores de 3 de 4 ratones remitieron a tamaños que eran demasiado pequeños para ser recolectados para su procesamiento posterior. El efecto antitumoral del tratamiento con GalXC-STAT3 también se observó en ratones que recibieron las dosis divididas de 12.5 mg/kg (Figura 19A). Estos datos sugieren que la regulación mediada por STAT3 de PD-L1 resulta en un efecto agudo y dramático sobre el crecimiento tumoral en los ratones inmunocompetentes portadores de tumor Pan02.

Ejemplo 10: Preparación de oligonucleótidos de ARNi bicatenarios

Síntesis y purificación de oligonucleótidos

Los oligonucleótidos de ARNi bicatenarios (ARNbc) descritos en los Ejemplos anteriores se sintetizaron químicamente mediante el uso de métodos descritos en la presente descripción. Generalmente, los oligonucleótidos de ARNi se sintetizan mediante el uso de métodos de síntesis de oligonucleótidos en fase sólida como se describió para los ARNip de 19-23 mer (ver, por ejemplo, Scaringe y otros (1990) NUCLEIC ACIDS RES. 18:5433-41 y Usman y otros (1987) J. AM. CHEM. SOC. 109:p,7845; ver además, las patentes de EE. UU. núms. 5,804,683; 5,831,071; 5,998,203; 6,008,400; 6,111,086; 6,117,657; 6,353,098; 6,362,323; 6,437,117 y 6,469,158) además de usar la síntesis de fosforamidita conocida (ver, por ejemplo Hughes y Ellington (2017) COLD SPRING HARB PERSPECT BIOL. 9(1):a023812; Beaucage S.L., Caruthers M.H. *Studies on Nucleotide Chemistry V: Deoxynucleoside Phosphoramidites—A New Class of Key Intermediates for Deoxypolynucleotide Synthesis*. TETRAHEDRON LETT. 1981;22:1859–62. doi: 10.1016/S0040-4039(01)90461-7). Los oligonucleótidos de ARNbc que tienen una secuencia central de 19 mer se formatean en construcciones que tienen una hebra sentido de 25 mer y una hebra antisentido de 27 mer para permitir el procesamiento por la maquinaria de ARNi. La secuencia central de 19 mer es complementaria a una región en el ARNm de STAT3.

Se sintetizaron hebras de ARN individuales y se purificaron por HPLC de acuerdo con métodos estándar (Integrated DNA Technologies; Coralville, IA). Por ejemplo, los oligonucleótidos de ARN se sintetizaron mediante el uso de química de fosforamidita en fase sólida, se desprotegieron y desalinizaron en columnas NAP-5 (Amersham Pharmacia Biotech; Piscataway, NJ) mediante el uso de técnicas estándar (Damha & Olgivie (1993)

METHODS MOL. BIOL. 20:81-114; Wincott y otros (1995) NUCLEIC ACIDS RES. 23:2677-2684). Los oligómeros se purificaron mediante el uso de cromatografía líquida de alto rendimiento de intercambio iónico (IE-HPLC) en una columna Amersham Source 15Q (1.0 cm x 25 cm; Amersham Pharmacia Biotech) mediante el uso de un gradiente lineal por etapas de 15 min. El gradiente varió de 90:10 de los tampones A:B a 52:48 de los tampones A:B, donde el tampón A es Tris 100 mM pH 8.5 y el tampón B es Tris 100 mM pH 8.5, NaCl 1 M. Las muestras se monitorearon a 260 nm y los picos correspondientes a las especies de oligonucleótidos de longitud completa se recolectaron, agruparon, desalinizaron en columnas NAP-5 y liofilizaron.

La pureza de cada oligómero se determina mediante electroforesis capilar (CE) en un Beckman PACE 5000 (Beckman Coulter, Inc.; Fullerton, CA). Los capilares CE tienen un diámetro interior de 100 μ m y contienen gel 100R para ADNmc (Beckman-Coulter). Típicamente, se inyectó aproximadamente 0.6 nmol de oligonucleótido en un capilar, se corrió en un campo eléctrico de 444 V/cm y se detectó mediante absorbancia UV a 260 nm. El tampón de corrida de Tris-Borato-7 M-urea desnaturalizante se adquirió de Beckman-Coulter. Se obtuvieron oligorribonucleótidos que tenían una pureza de al menos el 90 % según lo evaluado por CE para usar en los experimentos que se describen más abajo. La identidad del compuesto se verificó mediante espectroscopía de masas de tiempo de vuelo de ionización por desorción láser asistida por matriz (MALDI-TOF) en una estación de trabajo de biospectrometría Voyager DE™ (Applied Biosystems; Foster City, CA) de acuerdo con el protocolo recomendado por el fabricante. Se obtuvieron masas moleculares relativas de todos los oligómeros, a menudo dentro del 0.2 % de la masa molecular esperada.

Preparación de híbridos

Los oligómeros de ARN monocatenario se resuspendieron (por ejemplo, a una concentración de 100 μ M) en tampón híbrido que consiste en acetato de potasio 100 mM, HEPES 30 mM, pH 7.5. Se mezclaron hebras sentido y antisentido complementarias en cantidades molares iguales para producir una solución final de, por ejemplo, híbrido 50 μ M. Las muestras se calentaron a 100 °C durante 5' en tampón de ARN (IDT) y se dejaron enfriar a temperatura ambiente antes de su uso. Los oligonucleótidos de ARNbc se almacenaron a -20 °C. Los oligómeros de ARN monocatenario se almacenaron liofilizados

o en agua libre de nucleasas a -80°C .

Ejemplo 11: Generación de oligonucleótidos de ARNi bicatenarios dirigidos a *STAT3*

Identificación de secuencias diana del ARNm de *STAT3*

El transductor de señal y activador de la transcripción 3 (*STAT3*) es un factor de transcripción implicado en numerosas funciones de desarrollo y enfermedad. Para generar inhibidores oligonucleotídicos de ARNi contra la expresión de *STAT3*, se usó un algoritmo basado en computadora para identificar computacionalmente las secuencias diana de ARNm de *STAT3* adecuadas para evaluar la inhibición de la expresión de *STAT3* por la vía del ARNi. El algoritmo proporcionó secuencias de hebras guía (antisentido) de oligonucleótidos de ARNi, cada una de las cuales tenía una región de complementariedad con una secuencia diana de *STAT3* adecuada del ARNm de *STAT3* humano (por ejemplo, SEQ ID NO:1217; Tabla 6). Algunas de las secuencias de hebras guía identificadas por el algoritmo también eran complementarias a la secuencia diana de *STAT3* correspondiente del ARNm de *STAT3* de mono (SEQ ID NO: 1218 Tabla 6) y/o ARNm de *STAT3* de ratón. Se prevé que los oligonucleótidos de ARNi para *STAT3* que comprenden una región de complementariedad con secuencias diana del ARNm de *STAT3* homólogas con similitud de secuencia de nucleótidos tengan la capacidad de dirigirse a los ARNm de *STAT3* homólogos.

Tabla 6: Secuencias del ARNm de *STAT3* humano y de mono

Especies	Núm. secuencia de referencia	SEQ ID NO
Humano (Hs)	NM_139276.3	1217
M. Fascicularis (Mf)	XM_005584240.2	1218
Mus Musculus (Mm)	NM_213659.3	1229

Los oligonucleótidos de ARNi (formateados como oligonucleótidos de ARNisD) se generaron como se describió en el Ejemplo 10 para su evaluación *in vitro*. Cada ARNisD se generó con el mismo patrón de modificación, y cada uno con una hebra guía única que tiene una región de complementariedad con una secuencia diana de *STAT3* identificada por las SEQ ID NO: 89-280. Las modificaciones para el ARNisD sentido y antisentido incluyeron lo siguiente (X- cualquier nucleótido; m- nucleótido modificado con 2'-O-metilo; r- nucleótido modificado con ribosilo):

Hebra sentido:

rXmXrXmXrXrXrXrXrXrXrXrXrXmXrXmXrXrXrXrXrXrXXX

Hebra antisentido:

mXmXmXmXrXrXrXrXrXrXmXrXmXrXrXrXrXrXrXmXrXmXmXmX

La capacidad de cada uno de los ARNiD modificados en la Tabla 7 para reducir el ARNm de *STAT3* se midió mediante el uso de ensayos basados en células *in vitro*. Brevemente, las células de hepatocitos humanos (Huh7) que expresan el gen *STAT3* endógeno humano se transfectaron con cada uno de los ARNiD mencionados en la Tabla 7 a 1 nM en pocillos separados de una placa de cultivo celular de múltiples pocillos. Las células se mantuvieron durante 24 horas después de la transfección con el ARNiD modificado, y después la cantidad restante de ARNm de *STAT3* de las células transfectadas se determinó mediante un ensayo de qPCR basado en TAQMAN®. Dos ensayos de qPCR, un ensayo 3' y un ensayo 5' (Directa 1- SEQ ID NO: 1219), Inversa 1- SEQ ID NO: 1220, Sonda 1- SEQ ID NO: 1221; Directa 2- SEQ ID NO: 1222, Inversa 2- SEQ ID NO: 1223, Sonda 2- SEQ ID NO: 1224) se usaron para determinar los niveles de ARNm de *STAT3* medidos mediante el uso de sondas de PCR conjugadas con 6-carboxi-fluoresceína (FAM). Cada par de cebadores se analizó para determinar el % de ARN restante como se muestra en la Tabla 7 y Figura 20. Los ARNiD que dieron como resultado menos que o igual al 10 % del ARNm de *STAT3* restante en las células transfectadas con ARNiD cuando se compara con las células transfectadas de forma simulada se consideraron como “aciertos” de ARNiD. El ensayo basado en células Huh7 que evalúa la capacidad de los ARNiD mencionados en la Tabla 7 para inhibir la expresión de *STAT3* identificó numerosos ARNiD candidatos.

En conjunto, estos resultados muestran que los ARNiD diseñados para dirigirse al ARNm de *STAT3* humano inhiben la expresión de *STAT3* en las células, según se determinó por una cantidad reducida del ARNm de *STAT3* en células transfectadas con ARNiD con relación a las células de control. Estos resultados demuestran que las secuencias de nucleótidos que comprenden el ARNiD son útiles para generar oligonucleótidos de ARNi para inhibir la expresión de *STAT3*. Además, estos resultados demuestran que múltiples secuencias diana del ARNm de *STAT3* son adecuadas para la inhibición de la expresión de *STAT3* mediada por ARNi.

Tabla 7. Análisis del ARNm de *STAT3* en células Huh7

			Promedio	Ensayo <i>STAT3</i> -5'	Ensayo <i>STAT3</i> -3'
--	--	--	----------	-------------------------	-------------------------

SEQ ID NO (hebra sentido)	SEQ ID NO (hebra antisent ido)	Nombre del ARNisD	% restante	SEM	% restante	SEM	% restant e	SEM
473	665	370	51.9	3.7	61.8	4.0	41.9	3.3
474	666	372	12.0	1.3	12.3	1.5	11.7	1.2
475	667	424	5.9	1.5	5.3	1.7	6.5	1.2
476	668	425	4.4	1.0	4.7	0.8	4.2	1.2
477	669	426	4.6	1.2	2.1	1.0	7.2	1.5
478	670	429	5.5	1.0	4.2	0.6	6.9	1.3
479	671	430	19.0	3.9	19.3	5.0	18.7	2.7
480	672	432	8.8	2.5	13.3	4.2	4.4	0.8
481	673	433	27.6	2.9	27.6	3.6	27.5	2.2
482	674	460	20.1	3.1	24.5	3.7	15.6	2.5
483	675	461	12.9	1.9	12.4	2.0	13.5	1.9
484	676	462	32.2	2.9	32.7	2.9	31.6	2.9
485	677	492	33.8	2.3	30.3	1.6	37.3	3.0
486	678	678	11.7	2.0	11.7	2.3	11.8	1.6
487	679	681	12.5	2.3	10.4	2.0	14.6	2.5
488	680	715	9.5	0.8	10.4	0.9	8.7	0.7
489	681	716	11.2	1.1	12.5	1.4	9.9	0.7
490	682	717	8.4	1.5	8.0	1.4	8.7	1.6
491	683	720	11.4	1.7	12.4	1.8	10.4	1.5
492	684	721	7.5	0.9	7.3	0.8	7.6	0.9
493	685	722	13.3	2.0	13.5	2.1	13.1	2.0
494	686	723	16.7	3.2	18.9	4.5	14.4	1.9
495	687	724	13.6	1.7	14.2	2.0	12.9	1.5
496	688	768	12.1	2.0	13.1	2.2	11.0	1.8
497	689	771	43.2	3.9	38.4	3.3	48.0	4.6
498	690	773	142.6	42.3	138.3	44.1	146.9	40.4
499	691	1000	19.3	2.9	22.0	3.9	16.5	2.0
500	692	1001	12.1	1.6	13.3	1.7	11.0	1.4
501	693	1003	51.3	6.5	62.8	8.3	39.8	4.7
502	694	1006	13.0	3.9	12.3	4.2	13.6	3.7
503	695	1008	93.5	12.0	90.0	13.1	96.9	11.0
504	696	1009	30.1	3.2	29.9	3.7	30.4	2.8
505	697	1010	22.1	3.5	22.7	4.4	21.5	2.6
506	698	1047	43.7	6.3	45.8	6.8	41.6	5.7
507	699	1067	15.3	1.3	16.0	1.5	14.5	1.1
508	700	1068	3.6	0.7	2.5	0.8	4.8	0.7
509	701	1145	9.2	2.2	8.4	2.5	9.9	1.8
510	702	1151	12.4	2.1	13.0	2.4	11.9	1.9
511	703	1241	6.7	1.9	8.3	1.9	5.1	1.8
512	704	1268	14.3	3.0	15.6	3.8	13.0	2.2

513	705	1272	85.2	16.3	104.4	20.9	66.1	11.8
514	706	1273	15.1	3.3	17.3	3.9	12.8	2.7
515	707	1275	14.7	1.7	13.7	1.8	15.8	1.7
516	708	1277	21.7	2.0	22.5	1.7	20.9	2.3
517	709	1278	10.8	1.4	9.4	1.9	12.1	0.9
518	710	1279	6.8	0.7	6.3	0.7	7.3	0.8
519	711	1280	9.9	1.0	8.2	1.0	11.5	1.0
520	712	1281	8.6	1.1	6.7	0.9	10.5	1.4
521	713	1282	17.0	1.9	15.8	1.6	18.1	2.1
522	714	1283	12.8	1.5	11.3	1.4	14.2	1.7
523	715	1284	7.8	1.0	6.2	0.8	9.4	1.3
524	716	1286	5.5	0.4	3.9	0.5	7.0	0.4
525	717	1287	5.1	0.6	4.6	0.9	5.6	0.3
526	718	1292	6.4	0.8	5.3	0.6	7.6	1.1
527	719	1293	7.3	0.8	5.9	0.9	8.7	0.6
528	720	1299	33.4	3.0	35.8	2.7	30.9	3.2
529	721	1305	27.5	1.9	26.7	0.6	28.3	3.1
530	722	1383	20.8	2.2	17.4	2.3	24.3	2.1
531	723	1388	4.0	0.8	1.6	0.6	6.3	0.9
532	724	1427	11.0	1.5	8.6	2.0	13.3	1.0
533	725	1485	11.6	2.3	12.4	2.1	10.8	2.6
534	726	1584	80.0	7.3	80.7	8.2	79.4	6.5
535	727	1586	22.0	2.8	18.6	2.6	25.4	3.0
536	728	1670	4.0	0.5	2.6	0.4	5.4	0.6
537	729	1671	9.9	2.6	10.8	3.1	8.9	2.1
538	730	1672	2.8	0.8	3.6	1.2	2.1	0.5
539	731	1673	3.7	0.9	3.1	1.0	4.2	0.9
540	732	1674	5.2	1.5	5.0	1.7	5.4	1.3
541	733	1676	11.5	2.3	13.0	2.1	10.1	2.4
542	734	1813	8.8	2.1	6.9	2.2	10.7	2.0
543	735	1815	7.0	1.9	8.9	2.7	5.0	1.1
544	736	1817	21.2	3.5	22.8	3.6	19.6	3.5
545	737	1819	13.3	1.9	15.0	1.9	11.5	1.8
546	738	1904	58.3	7.3	73.2	8.7	43.4	5.9
547	739	1906	24.6	3.5	30.2	3.8	18.9	3.2
548	740	1907	9.7	1.4	9.4	1.9	9.9	0.9
549	741	1908	9.0	1.4	9.2	1.5	8.9	1.3
550	742	1909	68.6	6.7	79.9	7.5	57.4	6.0
551	743	1910	4.3	0.6	3.3	0.6	5.4	0.6
552	744	1911	20.4	1.6	20.6	1.7	20.2	1.6
553	745	1912	15.6	1.6	16.6	2.4	14.7	0.8
554	746	1913	9.4	1.0	10.1	0.9	8.8	1.1
555	747	1914	46.2	3.6	52.5	4.2	39.8	3.0
556	748	1916	12.9	2.0	13.3	2.2	12.4	1.7
557	749	1917	13.3	1.4	13.4	1.5	13.3	1.3

558	750	1919	45.6	5.5	54.0	7.0	37.1	4.0
559	751	1920	47.5	2.8	49.9	2.3	45.1	3.4
560	752	2024	27.1	5.9	29.5	7.1	24.7	4.6
561	753	2135	35.1	3.7	37.4	3.4	32.8	3.9
562	754	2136	8.6	2.1	6.9	2.0	10.3	2.2
563	755	2138	54.0	12.5	49.8	16.5	58.1	8.5
564	756	2139	2.9	0.6	2.8	0.7	3.1	0.6
565	757	2143	53.2	9.7	67.0	11.8	39.3	7.7
566	758	2144	6.2	1.6	5.1	1.3	7.2	1.9
567	759	2145	21.4	2.1	23.1	2.2	19.8	2.0
568	760	2146	55.3	5.0	56.7	6.3	54.0	3.7
569	761	2147	18.2	1.9	15.6	1.4	20.8	2.4
570	762	2148	20.2	2.5	20.7	3.1	19.8	1.9
571	763	2151	36.9	3.0	33.2	2.0	40.7	3.9
572	764	2153	17.1	1.9	17.3	2.2	17.0	1.6
573	765	2154	13.7	1.3	13.9	1.6	13.6	0.9
574	766	2159	33.6	2.2	29.7	1.9	37.5	2.6
575	767	2322	20.1	1.8	21.3	2.5	18.8	1.2
576	768	2325	20.6	2.6	23.7	2.7	17.5	2.5
577	769	2327	12.1	1.4	11.8	1.4	12.4	1.4
578	770	2329	36.8	3.0	40.3	3.3	33.4	2.8
579	771	2333	18.9	3.1	18.5	4.2	19.4	2.0
580	772	2335	12.5	1.9	10.1	1.8	14.9	2.1
581	773	2404	9.8	2.2	8.7	3.0	10.8	1.3
582	774	2405	6.1	1.3	5.9	1.1	6.4	1.4
583	775	2407	36.0	2.7	33.2	2.6	38.9	2.9
584	776	2408	9.3	2.0	8.6	1.9	10.0	2.0
585	777	2411	43.2	3.7	46.9	3.7	39.6	3.6
586	778	2412	6.1	1.2	5.3	1.4	7.0	1.0
587	779	2413	36.9	5.5	39.0	5.8	34.8	5.3
588	780	2416	28.6	4.9	30.4	5.6	26.7	4.2
589	781	2418	15.5	1.9	15.0	2.1	16.0	1.7
590	782	2422	81.2	10.1	84.5	11.5	77.9	8.8
591	783	2427	45.3	7.7	53.2	9.4	37.3	5.9
592	784	2612	64.9	11.5	79.1	14.0	50.6	9.0
593	785	2615	153.3	24.5	170.0	27.8	136.6	21.1
594	786	2616	37.3	3.8	40.0	4.5	34.5	3.1
595	787	2617	28.9	4.1	30.8	4.8	27.0	3.3
596	788	2622	94.8	6.4	91.1	5.7	98.5	7.1
597	789	2625	60.0	4.2	53.6	3.9	66.4	4.4
598	790	2626	43.4	2.9	41.3	2.6	45.5	3.1
599	791	2627	17.1	1.0	15.0	0.6	19.2	1.4
600	792	2692	14.2	1.9	14.0	1.6	14.3	2.1
601	793	2693	13.6	1.4	14.0	1.4	13.2	1.5
602	794	2715	24.9	1.8	23.5	1.9	26.2	1.8

603	795	2719	28.7	2.3	28.2	2.6	29.3	2.0
604	796	2721	32.2	2.3	33.2	2.0	31.1	2.6
605	797	2735	39.4	2.2	36.7	1.7	42.0	2.6
606	798	2741	31.3	3.9	34.6	4.1	28.1	3.8
607	799	2801	31.4	2.7	33.7	3.3	29.0	2.1
608	800	2803	26.5	1.9	29.8	2.1	23.1	1.7
609	801	2804	37.3	2.2	40.7	2.4	33.9	2.1
610	802	2806	77.7	5.2	77.1	5.0	78.2	5.3
611	803	2807	60.9	4.2	65.4	4.7	56.3	3.8
612	804	2808	44.7	2.9	45.9	3.5	43.5	2.4
613	805	2809	41.7	1.9	41.0	1.9	42.3	1.8
614	806	2810	28.6	2.9	28.3	3.1	28.8	2.6
615	807	2811	58.2	3.1	62.4	4.1	54.0	2.1
616	808	2812	44.4	2.3	50.1	2.4	38.7	2.2
617	809	2813	26.7	1.6	30.0	1.8	23.5	1.3
618	810	2846	26.4	2.3	27.8	2.1	25.0	2.5
619	811	2848	30.9	1.4	31.3	1.4	30.5	1.5
620	812	2849	28.5	2.8	29.6	3.0	27.4	2.7
621	813	2850	46.7	3.4	48.2	3.5	45.2	3.4
622	814	2851	28.7	3.3	28.0	3.3	29.4	3.3
623	815	2852	25.0	4.1	20.3	4.2	29.8	3.9
624	816	2853	109.6	6.9	109.9	6.6	109.2	7.1
625	817	2854	79.0	7.6	73.6	6.4	84.3	8.7
626	818	2855	53.0	8.6	44.8	7.4	61.1	9.8
627	819	2856	101.8	31.5	115.1	38.1	88.4	24.9
628	820	2857	39.3	10.0	47.1	9.7	31.6	10.3
629	821	2858	41.4	5.1	38.8	4.0	44.0	6.2
630	822	2859	29.8	7.4	31.1	7.5	28.5	7.3
631	823	2860	27.2	6.4	19.8	5.9	34.6	6.9
632	824	2861	30.8	3.8	29.5	5.0	32.1	2.6
633	825	2862	38.3	8.0	37.1	6.5	39.6	9.6
634	826	2863	33.5	8.0	29.4	6.2	37.6	9.8
635	827	2865	50.2	15.0	48.2	12.7	52.1	17.2
636	828	2867	27.3	4.0	25.0	3.8	29.6	4.1
637	829	2868	47.0	13.0	32.6	10.1	61.4	16.0
638	830	2975	30.7	6.7	30.6	6.7	30.9	6.8
639	831	2979	37.2	9.9	39.7	11.8	34.8	8.1
640	832	2985	48.7	13.2	28.0	12.3	69.3	14.2
641	833	3025	39.6	5.1	33.9	4.6	45.3	5.6
642	834	3037	49.0	10.8	46.3	11.5	51.7	10.1
643	835	3038	42.1	8.1	36.0	6.6	48.2	9.6
644	836	3039	74.7	12.0	72.4	13.0	77.0	11.0
645	837	3041	54.7	11.6	54.4	11.0	54.9	12.1
646	838	3042	46.9	8.2	54.3	11.3	39.6	5.1
647	839	3043	44.9	9.5	47.5	10.3	42.2	8.8

648	840	3225	40.3	8.4	40.7	8.8	39.9	8.0
649	841	3226	41.0	12.2	34.7	11.5	47.2	12.9
650	842	3605	30.6	8.1	24.7	8.3	36.5	7.9
651	843	3611	51.3	8.2	59.5	12.2	43.1	4.1
652	844	3906	32.1	6.8	28.6	7.9	35.5	5.6
653	845	4311	37.2	8.0	41.7	7.8	32.6	8.2
654	846	4314	31.0	4.5	39.9	5.2	22.0	3.8
655	847	4317	32.1	4.8	31.9	5.3	32.3	4.3
656	848	4321	34.1	6.7	37.3	6.2	30.9	7.2
657	849	4465	46.3	11.0	48.9	11.3	43.8	10.8
658	850	4479	33.1	7.5	34.8	7.8	31.4	7.1
659	851	4480	34.7	7.3	36.0	6.7	33.5	7.9
660	852	4831	49.1	4.0	44.4	4.9	53.7	3.2
661	853	4833	87.3	14.1	75.5	11.0	99.1	17.2
662	854	4836	139.9	17.1	124.8	15.2	154.9	19.1
663	855	4837	175.2	39.6	185.9	41.5	164.5	37.7
664	856	4909	27.6	3.2	30.6	3.8	24.7	2.6
		PC (2412)	5.2	0.7	3.9	0.7	6.4	0.7

Después de la selección inicial *in vitro*, se seleccionaron 48 construcciones para los estudios de dosificación. Las células Huh7 se trataron durante 24 horas con 0.05 nM, 0.3 nM o 1 nM de oligonucleótido. El ARNm se aisló y se midió para determinar una dosis potente (Figura 21A). De los oligonucleótidos evaluados, se seleccionaron 34 secuencias para pruebas adicionales *in vivo* (Tabla 8 y Figura 21B).

Tabla 8. Análisis del ARNm de *STAT3* en el estudio de dosificación Huh7

	1 nM		0.3 nM		0.05 nM	
	% de ARNm restante	Desviación estándar	% de ARNm restante	Desviación estándar	% de ARNm restante	Desviación estándar
STAT3-372	18.7	2.0	62.7	7.0	81.3	20.0
STAT3-715	15.7	1.2	38.4	5.0	106.5	11.5
STAT3-716	17.6	1.3	36.1	3.4	99.3	10.2
STAT3-717	16.6	1.0	23.9	3.3	78.8	8.1
STAT3-720	18.6	2.3	33.2	4.3	111.2	9.0
STAT3-721	17.8	1.8	31.4	2.9	84.6	9.2
STAT3-722	17.8	2.4	56.3	5.4	109.4	11.7
STAT3-724	18.5	2.1	57.2	6.8	119.7	11.1
STAT3-768	15.6	2.3	36.0	4.8	78.4	10.4
STAT3-1001	14.7	2.1	36.3	5.6	88.5	13.2
STAT3-	25.2	3.0	48.5	5.2	105.4	14.0

1006						
STAT3-1068	10.5	2.7	40.5	4.5	144.0	37.7
STAT3-1145	15.7	2.4	29.3	4.6	61.6	4.3
STAT3-1151	19.4	2.2	31.0	3.3	103.5	7.8
STAT3-1268	19.7	1.8	33.1	3.1	101.6	10.4
STAT3-1273	16.2	1.1	37.1	3.9	93.4	9.3
STAT3-1275	29.1	2.5	61.6	21.5	89.1	8.3
STAT3-1278	22.2	5.7	67.4	7.6	98.0	8.8
STAT3-1279	15.3	2.0	44.9	5.1	83.6	7.1
STAT3-1280	19.8	1.5	37.9	4.7	85.3	10.4
STAT3-1281	20.2	2.2	36.3	4.5	71.9	7.0
STAT3-1283	21.8	2.4	58.1	9.1	78.3	16.1
STAT3-1284	18.8	2.6	42.7	9.3	75.2	8.0
STAT3-1286	15.0	2.2	61.9	33.7	86.9	19.8
STAT3-1287	13.7	2.0	33.3	10.9	85.0	36.0
STAT3-1292	17.0	2.3	43.4	4.7	88.3	10.9
STAT3-1293	15.0	2.1	32.8	3.1	72.9	7.9
STAT3-1388	11.0	2.3	34.1	2.2	111.9	28.3
STAT3-1427	23.5	2.3	78.1	5.4	90.6	15.0
STAT3-1485	24.4	2.1	62.2	3.5	114.1	12.6
STAT3-1676	31.5	4.2	54.1	4.4	102.3	9.4
STAT3-1819	28.9	3.6	47.8	2.6	82.0	6.2
STAT3-1907	29.5	3.8	51.2	3.4	96.7	13.5
STAT3-	32.4	3.6	47.2	3.0	86.4	10.0

1908						
STAT3-1910	15.9	2.2	43.8	4.1	91.6	19.2
STAT3-1913	16.8	3.1	50.9	4.7	106.2	20.7
STAT3-1916	27.4	3.2	57.4	3.2	153.0	18.1
STAT3-1917	21.2	2.3	53.3	2.4	117.9	27.1
STAT3-2139	9.9	3.3	29.1	3.2	91.8	15.7
STAT3-2144	16.3	2.3	34.9	2.8	105.9	37.8
STAT3-2154	23.2	2.6	37.1	3.4	113.4	24.6
STAT3-2327	18.2	1.9	25.7	4.7	76.6	31.2
STAT3-2335	30.5	3.6	49.7	4.0	84.3	28.4
STAT3-2408	19.4	2.0	29.8	3.4	74.6	16.2
STAT3-2412	17.0	4.1	30.3	1.9	105.7	29.5
STAT3-2418	24.2	4.2	42.0	4.5	90.7	28.0
STAT3-2692	17.8	2.3	43.8	4.2	91.1	19.3
STAT3-2693	14.8	1.5	47.8	4.6	124.5	25.5

Ejemplo 12: Inhibición de STAT3 *in vivo* por oligonucleótidos de ARNi

Los ensayos de selección *in vitro* en el Ejemplo 11 validaron la capacidad de los ARNiSD dirigidos a *STAT3* para inactivar el ARNm diana. Para confirmar la capacidad de los oligonucleótidos de ARNi para inactivar *STAT3 in vivo*, se usó un modelo de ratón HDI. Un subconjunto de los ARNiSD identificados en el Ejemplo 11 se usaron para generar los correspondientes oligonucleótidos de ARNi bicatenarios que comprenden una estructura de tetralazo con mella conjugada con GalNAc (denominada en la presente descripción “oligonucleótidos dirigidos a *STAT3* conjugados con GalNAc” u “oligonucleótidos GalNAc-*STAT3*”) que tienen una hebra pasajera de 36 mer y una hebra guía de 22 mer (Tabla 10 y Tabla 11). Además, las secuencias de nucleótidos que comprenden la hebra pasajera y la hebra guía tienen un patrón distinto de nucleótidos modificados y enlaces

fosforotioato. Tres de los nucleótidos que comprenden el tetralazo se conjugaron cada uno con una porción GalNAc (CAS#14131-60-3). Los patrones de modificación usados se ilustran más abajo:

Patrón 1

Hebra sentido: 5' mX-S-mX-mX-mX-mX-mX-mX-fX-fX-fX-fX[-mX-]₁₆-[ademX-GalNAc]-[ademX-GalNAc]-[ademX-GalNAc]-mX-mX-mX-mX-mX-mX 3'.

Hibridada a:

Hebra antisentido: 5' [MeFosfonato-4O-mX]-S-fX-S-fX-fX-fX-mX-fX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-S-mX-S-mX 3'.

O, representado como:

Hebra sentido: [mXs][mX][mX][mX][mX][mX][mX][fX][fX][fX][fX][mX][mX][mX]
[mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mX][mX][mX][mX][mX][mX]

Hibridada a:

Hebra antisentido: [MeFosfonato-4O-mXs][fXs][fX][fX][fX][mX][fX][mX]
[mX][fX][mX][mX][mX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mXs][mXs][mX]

Patrón 2

Hebra sentido: 5' mX-S-mX-mX-mX-mX-mX-mX-fX-fX-fX-fX[-mX-]₁₆-[ademX-GalNAc]-[ademX-GalNAc]-[ademX-GalNAc]-mX-mX-mX-mX-mX-mX 3'.

Hibridada a:

Hebra antisentido: 5'-[MeFosfonato-4O-mX]-S-fX-S-fX-S-fX-fX-mX-fX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-S-mX-S-mX 3'.

O, representado como:

Hebra sentido: [mXs][mX][mX][mX][mX][mX][mX][fX][fX][fX][fX][mX][mX][mX]
[mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mX][mX][mX][mX][mX][mX]

Hibridada a:

Hebra antisentido: [MeFosfonato-4O-mXs][fXs][fXs][fX][fX][mX][fX][mX]
[mX][fX][mX][mX][mX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mXs][mXs][mX]

(Clave de modificación: Tabla 9).

Símbolo	Modificación/enlace
Clave 1	
mX	Nucleótido modificado con 2'-O-metilo
fX	Nucleótido modificado con 2'-flúor
enlace -S-	enlace fosforotioato
-	enlace fosfodiéster
[MeFosfonato-4O-mX]	nucleótido modificado con 4'-O-monometilfosfonato-2'-O-metilo
ademA-GalNAc	2'-aminodietoximetanol-adenina-GalNAc (GalNAc unido a un nucleótido de adenina)
Clave 2	
[mXs]	Nucleótido modificado con 2'-O-metilo con un enlace fosforotioato al nucleótido vecino
[fXs]	Nucleótido modificado con 2'-flúor con un enlace fosforotioato al nucleótido vecino
[mX]	Nucleótido modificado con 2'-O-metilo con enlaces fosfodiéster con nucleótidos vecinos
[fX]	Nucleótido modificado con 2'-flúor con enlaces fosfodiéster con nucleótidos vecinos

Los oligonucleótidos en la Tabla 10 y Tabla 11 se evaluaron en ratones modificados genéticamente para expresar transitoriamente el ARNm de *STAT3* humano en hepatocitos del hígado de ratón. Brevemente, los ratones CD-1, hembras, de 6-8 semanas de edad (n = 4-5) recibieron la administración por vía subcutánea de los oligonucleótidos para *STAT3* conjugados con GalNAc a una dosis de 1 mg/kg formulados en PBS. A un grupo de ratones controles (n = 3-4) se les administró solo PBS. Tres días después (72 horas), a los ratones se les inyectó hidrodinámicamente (HDI) un plásmido de ADN que codificaba el gen *STAT3* humano completo (25 µg) bajo el control de una secuencia promotora ubicua de citomegalovirus (CMV). Un día después de la introducción del plásmido de ADN, se recolectaron muestras de hígado de los ratones HDI. El ARN total derivado de estos ratones HDI se sometió a análisis por qRT-PCR para determinar los niveles de ARNm de *STAT3* como se describió en el Ejemplo 11. Los niveles de ARNm se midieron para ARNm humano. Los valores se normalizaron para la eficiencia de la transfección mediante el uso del gen NeoR incluido en el plásmido de ADN. Se usó un control de referencia (*STAT3*-1388) que comprende un patrón de modificación diferente para ambos ensayos (Hebra Sentido SEQ ID NO: 1100; Hebra antisentido SEQ ID NO: 1190).

Tabla 10. Oligonucleótidos de ARNi para *STAT3* conjugados con GalNAc para la selección

de HDI

	Hebra sentido no modificada	Hebra antisentido no modificada	Hebra sentido modificada	Hebra antisentido modificada
STAT3-372	861	951	1041	1131
STAT3-715	857	947	1037	1127
STAT3-716	858	948	1038	1128
STAT3-717	859	949	1039	1129
STAT3-720	860	950	1040	1130
STAT3-721	862	952	1042	1132
STAT3-722	863	953	1043	1133
STAT3-768	864	954	1044	1134
STAT3-1001	865	955	1045	1135
STAT3-1006	866	956	1046	1136
STAT3-1145	867	957	1047	1137
STAT3-1151	868	958	1048	1138
STAT3-1268	869	959	1049	1139
STAT3-1273	870	960	1050	1140
STAT3-1279	871	961	1051	1141
STAT3-1280	872	962	1052	1142
STAT3-1281	873	963	1053	1143
STAT3-1388	920	1010	1100	1190

Tabla 11. Oligonucleótidos de ARNi para *STAT3* conjugados con GalNAc para la selección de HDI

	Hebra sentido no modificada	Hebra antisentido no modificada	Hebra sentido modificada	Hebra antisentido modificada
STAT3-1284	874	964	1054	1144
STAT3-1286	875	965	1055	1145
STAT3-1287	876	966	1056	1146
STAT3-1292	877	967	1057	1147
STAT3-1293	878	968	1058	1148
STAT3-1819	879	969	1059	1149
STAT3-1908	880	970	1060	1150
STAT3-1910	881	971	1061	1151
STAT3-1913	882	972	1062	1152
STAT3-2154	883	973	1063	1153
STAT3-2327	884	974	1064	1154
STAT3-2335	885	975	1065	1155
STAT3-2418	886	976	1066	1156
STAT3-2692	887	977	1067	1157
STAT3-2693	888	978	1068	1158
STAT3-2139	940	1030	1120	1210

STAT3-2408	896	986	1076	1166
STAT3-1388	920	1010	1100	1190

Los resultados en las Figuras 22A y 22B demuestran que los oligonucleótidos para *STAT3* conjugados con GalNAc que se diseñaron para dirigirse al ARNm de *STAT3* humano inhibieron con éxito la expresión de ARNm de *STAT3* humano en ratones HDI, según lo determinado por una reducción en la cantidad de la expresión del ARNm de *STAT3* humano en muestras de hígado de ratones HDI tratados con oligonucleótidos para *STAT3* conjugados con GalNAc con relación a los ratones HDI controles tratados solo con PBS.

Un subconjunto de los oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc evaluados en las Figuras 22A y 22B se validaron adicionalmente en un estudio de dosificación. Específicamente, los estudios de dosificación se llevaron a cabo mediante el uso de nueve oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc (STAT3-715, STAT3-716, STAT3-717, STAT3-720, STAT3-721, STAT3-1145, STAT3-1286, STAT3-1286, y STAT3-1287). Los ratones se inyectaron hidrodinámicamente como se describió anteriormente y se trataron con 0.1 mg/kg, 0.3 mg/kg o 1 mg/kg de oligonucleótido. Los hígados se extrajeron después de un día, y se midió la expresión de *STAT3* para determinar una dosis potente (Figura 23). Todos los oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc fueron capaces de reducir la expresión de *STAT3* a una dosis de 1 mg/kg y STAT3-1286 fue capaz de reducir la expresión a una dosis de 0.3 mg/kg. En general, los estudios de HDI identificaron varios posibles oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc para inhibir la expresión de *STAT3* en el hígado.

Ejemplo 13: Inhibición de oligonucleótidos de ARNi de *STAT3* específicos de especies *in vivo*

Para confirmar la capacidad de los oligonucleótidos de ARNi para inactivar *STAT3 in vivo*, se generaron varios oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc especies cruzadas y específicos de especies. Específicamente, se evaluaron oligonucleótidos triples comunes (dirigidos a humanos, primates no humanos y ratones; Hs-Mf-Mm), humanos/ratones (Hs/Mm) y específicos para humanos (Hs).

Hs-Mf-Mm y Hs/Mm Comunes

Los ratones que expresan *STAT3* endógeno de ratón en el hígado se inyectaron por vía subcutánea a una dosis de 3 mg/kg con los oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con

GalNAc que se exponen en la Tabla 12. Se recolectaron los hígados después de cinco días y se midió la expresión de *STAT3*. En general, los estudios de HDI identificaron varios posibles oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc Hs/Mf/Mm para inhibir la expresión de *STAT3* en el hígado (Figura 24).

Tabla 12. Oligonucleótidos de ARNi *STAT3* humano/mono/ratón conjugados con GalNAc para la selección endógena de *STAT3*.

	Hebra sentido no modificada	Hebra antisentido no modificada	Hebra sentido modificada	Hebra antisentido modificada
STAT3-461	901	991	1081	1171
STAT3-462	906	996	1086	1176
STAT3-492	905	995	1085	1175
STAT3-678	910	1000	1090	1180
STAT3-681	909	999	1089	1179
STAT3-771	908	998	1088	1178
STAT3-773	904	994	1084	1174
STAT3-1047	903	993	1083	1173
STAT3-1584	902	992	1082	1172
STAT3-1586	907	997	1087	1177
STAT3-2146	898	988	1078	1168
STAT3-2147	900	990	1080	1170
STAT3-2148	899	989	1079	1169
STAT3-2151	893	983	1073	1163
STAT3-2159	897	987	1077	1167
STAT3-2407	891	981	1071	1161
STAT3-2408	896	986	1076	1166
STAT3-2412	892	982	1072	1162
STAT3-2626	890	980	1070	1160
STAT3-2627	889	979	1069	1159
STAT3-4833	912	1002	1092	1182
STAT3-4836	895	985	1075	1165
STAT3-4837	911	1001	1091	1181

Los oligonucleótidos de *STAT3* humanos/de ratón conjugados con GalNAc que se exponen en la Tabla 13 se analizaron en ratones que expresaban endógenamente *STAT3* de ratón. Como se describió anteriormente, los ratones se inyectaron por vía subcutánea a una dosis de 3 mg/kg con oligonucleótido. Se recolectaron los hígados después de cinco días y se midió la expresión de *STAT3* de ratón. En general, el estudio identificó varios posibles oligonucleótidos de *STAT3* Hs/Mm conjugados con GalNAc para inhibir la expresión de

STAT3 en el hígado (Figura 25).

Tabla 13. Oligonucleótidos de ARNi de *STAT3* humano/de ratón conjugados con GalNAc para la selección endógena de *STAT3*.

	Hebra sentido no modificada	Hebra antisentido no modificada	Hebra sentido modificada	Hebra antisentido modificada
STAT3-1383	946	1036	1126	1216
STAT3-2135	945	1035	1125	1206
STAT3-2136	935	1025	1115	1205
STAT3-2138	938	1028	1118	1208
STAT3-2139	940	1030	1120	1210
STAT3-2143	936	1026	1116	1206
STAT3-2144	937	1027	1117	1207
STAT3-2145	942	1032	1122	1212
STAT3-2411	941	1031	1121	1211
STAT3-2622	944	1034	1124	1214
STAT3-4831	943	1033	1123	1213
STAT3-4909	939	1029	1119	1209

Un subconjunto de los oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc evaluados en las Figuras 24 y 25 se validaron adicionalmente en un estudio de dosificación. Específicamente, los estudios de dosificación se llevaron a cabo mediante el uso de diez oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc (STAT3-2626, STAT3-2627, STAT3-2408, STAT3-2412, STAT3-2139, STAT3-4909, STAT3- 461, STAT3-678, STAT3-2148, y STAT3-2144). Los ratones que expresan endógenamente *STAT3* de ratón se inyectaron por vía subcutánea con 0.3 mg/kg, 1 mg/kg o 3 mg/kg de oligonucleótido. Los hígados se colectaron cinco días después y se midió la expresión de *STAT3* de ratón para determinar una dosis potente (Figuras 26A y 26B). En general, los estudios de expresión endógena de *STAT3* de ratón identificaron varios posibles oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc para inhibir la expresión de *STAT3* de ratón en el hígado.

Hs Específico

Mediante el uso del modelo HDI descrito en el Ejemplo 12, se evaluaron oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc específicos para humanos. Específicamente, los ratones CD-1, hembras, de 6-8 semanas de edad (n = 4-5) recibieron la administración por vía subcutánea de los oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc (Tabla 14) a una dosis de 1 mg/kg formulados en PBS. A un grupo de ratones controles (n = 3-4) se les administró solo PBS. Tres días después (72 horas), a los ratones se les inyectó hidrodinámicamente (HDI) un plásmido de ADN que codificaba el gen *STAT3* humano completo (25 µg) bajo el control de una secuencia promotora ubicua de citomegalovirus

(CMV). Un día después de la introducción del plásmido de ADN, se recolectaron muestras de hígado de los ratones HDI. El ARN total derivado de estos ratones HDI se sometió a análisis qRT-PCR para determinar los niveles de ARNm de *STAT3*.

Tabla 14. Oligonucleótidos de ARNi de *STAT3* humano conjugado con GalNAc para la selección de *STAT3* exógeno.

	Hebra sentido no modificada	Hebra antisentido no modificada	Hebra sentido modificada	Hebra antisentido modificada
STAT3-424	926	1016	1106	1196
STAT3-425	932	1022	1112	1202
STAT3-426	915	1005	1095	1185
STAT3-429	921	1011	1101	1191
STAT3-430	923	1013	1103	1193
STAT3-432	924	1014	1104	1194
STAT3-433	918	1008	1098	1188
STAT3-1067	917	1007	1097	1187
STAT3-1670	919	1009	1099	1189
STAT3-1241	930	1020	1110	1200
STAT3-1388	920	1010	1100	1190
STAT3-1671	934	1024	1114	1204
STAT3-1672	931	1021	1111	1201
STAT3-1673	914	1004	1094	1184
STAT3-1674	929	1019	1109	1199
STAT3-1813	928	1018	1108	1198
STAT3-1815	925	1015	1105	1195
STAT3-1817	933	1023	1113	1203
STAT3-2024	927	1017	1107	1197
STAT3-2404	916	1006	1096	1186
STAT3-2405	922	1012	1102	1192

Los resultados en la Figura 27 demuestran que los oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc que se diseñaron para dirigirse al ARNm de *STAT3* humano inhibieron con éxito la expresión de ARNm de *STAT3* humano en ratones HDI, según lo determinado por una reducción en la cantidad de la expresión de ARNm de *STAT3* humano en muestras de hígado de ratones HDI tratados con oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc con relación a los ratones HDI controles tratados solo con PBS.

Un subconjunto de los oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc evaluados en la Figura 27 se validaron adicionalmente en un estudio de dosificación. Específicamente, los estudios de dosificación se llevaron a cabo mediante el uso de cinco oligonucleótidos de

STAT3 conjugados con GalNAc (STAT3-426, STAT3-432, STAT3-1068, STAT3-1388, y STAT3-2404). Los ratones se inyectaron hidrodinámicamente como se describió anteriormente y se trataron con 0.3 mg/kg, 1 mg/kg o 3 mg/kg de oligonucleótido. Los hígados se recolectaron después de un día, y se midió la expresión de *STAT3* humano para determinar una dosis potente (Figura 28). Una dosis de 1 mg/kg fue capaz de reducir el ARNm de *STAT3* en aproximadamente un 75 %, identificando de esta manera varios oligonucleótidos potenciales de *STAT3* conjugados con GalNAc para inhibir la expresión de *STAT3* en el hígado. Las 2 mejores secuencias de la Figura 23 y la mejor secuencia de la Figura 28 se evaluaron en la selección final de HDI (Figura 29).

Ejemplo 14: Inhibición específica de *STAT3* por oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc

Se midió la especificidad de los oligonucleótidos de *STAT3* conjugados con GalNAc para inhibir *STAT3* en lugar de un miembro de la familia (por ejemplo, *STAT1*). Específicamente, las células Huh7 que expresan *STAT1* endógeno se trataron durante 24 horas con 0.05 nM, 0.3 nM o 1 nM de un oligonucleótido de *STAT3* conjugado con GalNAc (STAT3-721, STAT3-1286 y STAT3-1388) mediante el uso de lipofectamina como agente de transfección. El porcentaje (%) de ARNm restante se midió en comparación con un control simulado (PBS; sin lipofectamina o ARNip) y UTR (sin transfectar; tratado con lipofectamina pero sin ARNip) (Tabla 15 y Figura 30). STAT3 721 y 1286 no reguló negativamente el *STAT1* humano, pero STAT3 1388 sí (Tabla 15). Los oligonucleótidos no redujeron la expresión de *STAT1*, lo que demuestra una especificidad para *STAT3* con efectos limitados fuera de la diana para *STAT1*.

Tabla 15. Expresión de *STAT1*

Muestra	Concentración	% de Expresión	SEM
Simuladas		100.0	10.8
UTR		107.5	8.4
STAT3-721	0.05 nM	102.3	16.2
	0.3 nM	113.6	12.8
	1 nM	142.0	15.6
STAT3-1286	0.05 nM	103.7	23.0
	0.3 nM	133.8	9.6
	1 nM	136.3	10.0
STAT3-1388	0.05 nM	97.3	45.2
	0.3 nM	86.8	14.6
	1 nM	47.7	20.3

LISTADO DE SECUENCIAS

Nombre	Descripción	Especies	Secuencia	SEQ ID NO
GalXC-ALDH2-C18	36 mer sin modificar		GGUGGAUGAAACUCAGUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	1
GalXC-ALDH2-C18	22 mer sin modificar		UAAACUGAGUUUCAUCCACCGG	2
GalXC-ALDH2-C18	36 mer modificado		[mGs][mG][fU][mG][fG][mA][mU][fG][mA][fA][mA][fC][fU][mC][fA][mG][fU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-C18][mA][mA][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	3
GalXC-ALDH2-C18	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fA][fC][mU][fG][mA][mG][fU][mU][mU][mC][fA][mU][fC][mC][mA][fC][mCs][mGs][mG]	4
GalXC-ALDH2-C22	36 mer sin modificar		GGUGGAUGAAACUCAGUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	5
GalXC-ALDH2-C22	22 mer sin modificar		UAAACUGAGUUUCAUCCACCGG	6
GalXC-ALDH2-C22	36 mer modificado		[mGs][mG][fU][mG][fG][mA][mU][fG][mA][fA][mA][fC][fU][mC][fA][mG][fU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-C22][mA][mA][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	7
GalXC-ALDH2-C22	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fA][fC][mU][fG][mA][mG][fU][mU][mU][mC][fA][mU][fC][mC][mA][fC][mCs][mGs][mG]	8
GalXC-STAT3-838	36 mer sin modificar		AGGACGACUUUGAUUUCAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	9
GalXC-STAT3-838	22 mer sin modificar		UUUGAAAUCAAAGUCGUCCUGG	10
GalXC-STAT3-838	36 mer modificado		[mAs][mG][mG][mA][mC][mG][mA][fC][fU][fU][fU][mG][mA][mU][mU][mU][mC][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-	11

			GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
GalXC-STAT3-838	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fU][fG][fA][mA][fA][mU][mC][fA][mA][mA][mG][fU][mC][mG][mU][mC][mC][mUs][mGs][mG]	12
GalXC-STAT3-1390	36 mer sin modificar		UCAAUUUCCUGAGUUGAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	13
GalXC-STAT3-1390	22 mer sin modificar		UUUCAACUCAG GAAUUUGAGG	14
GalXC-STAT3-1390	36 mer modificado		[mUs][mC][mA][mA][mA][mU][mU][fU][fC][fC][fU][mG][mA][mG][mU][mU][mG][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	15
GalXC-STAT3-1390	22 mer modificado		[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fU][fG][fA][mA][fA][mU][mC][fA][mA][mA][mG][fU][mC][mG][mU][mC][mC][mUs][mGs][mG]	16
GalXC-STAT3-1394	36 mer sin modificar		AUUUCCUGAGUUGAAUUAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	17
GalXC-STAT3-1394	22 mer sin modificar		UAUAAUUCAACUCAGGAAAUGG	18
GalXC-STAT3-1394	36 mer modificado		[mAs][mU][mU][mU][mC][mC][mU][fG][fA][fG][fU][mU][mG][mA][mA][mU][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	19
GalXC-STAT3-1394	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fA][fA][mU][fU][mC][mA][fA][mC][mU][mC][fA][mG][mG][mA][mA][mA][mUs][mGs][mG]	20
GalXC-STAT3-1398	36 mer sin modificar		CCUGAGUUGAAUUAUCAGCAGCAGC CGAAAGGCUGC	21
GalXC-STAT3-1398	22 mer sin modificar		UGCUGAUAAUUCAACUCAGGGG	22
GalXC-STAT3-	36 mer modificado		[mCs][mC][mU][mG][mA][mG][mU][fU][fG][fA][fA][mU][mU][mA][mU][mC][mA][	23

1398			mG][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
GalXC-STAT3-1398	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fGs][fC][fU][fG][mA][fU][mA][mA][fU][mU][mC][mA][fA][mC][mU][mC][mA][mG][mGs][mGs][mG]	24
GalXC-STAT3-1399	36 mer sin modificar		CUGAGUUGAAUUAUCAGCUAGCAGC CGAAAGGCUGC	25
GalXC-STAT3-1399	22 mer sin modificar		UAGCUGAUAAUUCAACUCAGGG	26
GalXC-STAT3-1399	36 mer modificado		[mCs][mU][mG][mA][mG][mU][mU][fG][fA][fA][fU][mU][mA][mU][mC][mA][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	27
GalXC-STAT3-1399	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fG][fC][fU][mG][fA][mU][mA][fA][mU][mU][mC][fA][mA][mC][mU][mC][mA][mGs][mGs][mG]	28
GalXC-STAT3-1400	36 mer sin modificar		UGAGUUGAAUUAUCAGCUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	29
GalXC-STAT3-1400	22 mer sin modificar		UAAGCUGAUAAUUCAACUCAGG	30
GalXC-STAT3-1400	36 mer modificado		[mUs][mG][mA][mG][mU][mU][mG][fA][fA][fU][fU][mA][mU][mC][mA][mG][mC][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	31
GalXC-STAT3-1400	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fG][fC][mU][fG][mA][mU][fA][mA][mU][mU][fC][mA][mA][mC][mU][mC][mAs][mGs][mG]	32
GalXC-STAT3-1401	36 mer sin modificar		GAGUUGAAUUAUCAGCUUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	33
GalXC-STAT3-1401	22 mer sin modificar		UUAAGCUGAUAAUUCAACUCGG	34

GalXC-STAT3-1401	36 mer modificado		[mGs][mA][mG][mU][mU][mG][mA][fA][fU][fU][fA][mU][mC][mA][mG][mC][mU][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	35
GalXC-STAT3-1401	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fA][fA][fG][mC][fU][mG][mA][fU][mA][mA][mU][fU][mC][mA][mA][mC][mU][mCs][mGs][mG]	36
GalXC-STAT3-1402	36 mer sin modificar		AGUUGAAUUAUCAGCUUAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	37
GalXC-STAT3-1402	22 mer sin modificar		UUUAAGCUGAUAAUUCAACUGG	38
GalXC-STAT3-1402	36 mer modificado		[mAs][mG][mU][mU][mG][mA][mA][fU][fU][fA][fU][mC][mA][mG][mC][mU][mU][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	39
GalXC-STAT3-1402	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fU][fA][fA][mG][fC][mU][mG][fA][mU][mA][mA][fU][mU][mC][mA][mA][mC][mUs][mGs][mG]	40
GalXC-STAT3-1759	36 mer sin modificar		CAAUCCUGUGGUUAUAACAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	41
GalXC-STAT3-1759	22 mer sin modificar		UAUGUUAUACCACAGGAUUGGG	42
GalXC-STAT3-1759	36 mer modificado		[mCs][mA][mA][mU][mC][mC][mU][fG][fU][fG][fG][mU][mA][mU][mA][mA][mC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	43
GalXC-STAT3-1759	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fG][fU][mU][fA][mU][mA][fC][mC][mA][mC][fA][mG][mG][mA][mU][mU][mGs][mGs][mG]	44
GalXC-STAT3-2029	36 mer sin modificar		ACAAUAUCAUCGACCUUGUAGCAGC CGAAAGGCUGC	45
GalXC-	22 mer sin		UACAAGGUCGAUGAUAUUGUGG	46

STAT3-2029	modificar			
GalXC-STAT3-2029	36 mer modificado		[mAs][mC][mA][mA][mU][mA][mU][fC][fA][fU][fC][mG][mA][mC][mC][mU][mU][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	47
GalXC-STAT3-2029	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fC][fA][fA][mG][fG][mU][mC][fG][mA][mU][mG][fA][mU][mA][mU][mU][mG][mUs][mGs][mG]	48
GalXC-STAT3-2034	36 mer sin modificar		AUCAUCGACCUUGUGAAAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	49
GalXC-STAT3-2034	22 mer sin modificar		UUUUUCACAAGGUCGAUGAUGG	50
GalXC-STAT3-2034	36 mer modificado		[mAs][mU][mC][mA][mU][mC][mG][fA][fC][fC][fU][mU][mG][mU][mG][mA][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	51
GalXC-STAT3-2034	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fU][fU][fU][mC][fA][mC][mA][fA][mG][mG][mU][fC][mG][mA][mU][mG][mA][mUs][mGs][mG]	52
GalXC-STAT3-2448	36 mer sin modificar		CUGAAGACCAAGUUCAUCUAGCAGC CGAAAGGCUGC	53
GalXC-STAT3-2448	22 mer sin modificar		UAGAUGAACUU GGUCUUCAGGG	54
GalXC-STAT3-2448	36 mer modificado		[mCs][mU][mG][mA][mA][mG][mA][fC][fC][fA][fA][mG][mU][mU][mC][mA][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	55
GalXC-STAT3-2448	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fG][fA][fU][mG][fA][mA][mC][fU][mU][mG][mG][fU][mC][mU][mU][mC][mA][mGs][mGs][mG]	56
GalXC-STAT3-	36 mer sin modificar		AUUCAUUGAUGCAGUUUGGAGCAGC CGAAAGGCUGC	57

2527				
GalXC-STAT3-2527	22 mer sin modificar		UCCAAACUGCAUCA AUGAAUGG	58
GalXC-STAT3-2527	36 mer modificado		[mAs][mU][mU][mC][mA][mU][mU][fG][fA][fU][fG][mC][mA][mG][mU][mU][mU][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	59
GalXC-STAT3-2527	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fC][fA][fA][mA][fC][mU][mG][fC][mA][mU][mC][fA][mA][mU][mG][mA][mA][mUs][mGs][mG]	60
GalXC-STAT3-4107	36 mer sin modificar		CCCAUCA AUGUUCUUAGUAGCAGC CGAAAGGCUGC	61
GalXC-STAT3-4107	22 mer sin modificar		UACUAAAGAACAUGAUGGGGG	62
GalXC-STAT3-4107	36 mer modificado		[mCs][mC][mC][mA][mU][mC][mA][fA][fU][fG][fU][mU][mC][mU][mU][mU][mA][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	63
GalXC-STAT3-4107	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fC][fU][fA][mA][fA][mG][mA][fA][mC][mA][mU][fU][mG][mA][mU][mG][mG][mGs][mGs][mG]	64
GalXC-STAT3-4110	36 mer sin modificar		AUCA AUGUUCUUAGUUAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	65
GalXC-STAT3-4110	22 mer sin modificar		UAUAACUAAAGAACAUGAUGG	66
GalXC-STAT3-4110	36 mer modificado		[mAs][mU][mC][mA][mA][mU][mG][fU][fU][fC][fU][mU][mU][mA][mG][mU][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	67
GalXC-STAT3-4110	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fA][fA][mC][fU][mA][mA][fA][mG][mA][mA][fC][mA][mU][mU][mG]	68

			][mA][mUs][mGs][mG]	
GalXC-STAT3-4123	36 mer sin modificar		AGUUAUACAAUAAGCUGAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	69
GalXC-STAT3-4123	22 mer sin modificar		UUUCAGCUUAUUGUAUAACUGG	70
GalXC-STAT3-4123	36 mer modificado		[mAs][mG][mU][mU][mA][mU][mA][fC][fA][fA][fU][mA][mA][mG][mC][mU][mG][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	71
GalXC-STAT3-4123	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fU][fC][fA][mG][fC][mU][mU][fA][mU][mU][mG][fU][mA][mU][mA][mA][mC][mUs][mGs][mG]	72
GalXC-STAT3-4435	36 mer sin modificar		AGUGUAAAAAUUUAUAUUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	73
GalXC-STAT3-4435	22 mer sin modificar		UUAAUAUAAAUUUUUACACUGG	74
GalXC-STAT3-4435	36 mer modificado		[mAs][mG][mU][mG][mU][mA][mA][fA][fA][fA][fU][mU][mU][mA][mU][mA][mU][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	75
GalXC-STAT3-4435	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fA][fA][fU][mA][fU][mA][mA][fA][mU][mU][mU][fU][mU][mA][mC][mA][mC][mUs][mGs][mG]	76
GalXC-STAT3-4474	36 mer sin modificar		UUGUUUGUUUUUGUAUAUUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	77
GalXC-STAT3-4474	22 mer sin modificar		UUAAUAUAAAUUUUUACACUGG	78
GalXC-STAT3-4474	36 mer modificado		[mUs][mU][mG][mU][mU][mU][mG][fU][fU][fU][fU][mU][mG][mU][mA][mU][mA][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	79
GalXC-	22 mer		[MeFosfonato-4O-	80

STAT3-4474	modificado		mUs][fAs][fA][fU][fA][mU][fA][mC][mA][fA][mA][mA][mA][fC][mA][mA][mA][mC][mA][mAs][mGs][mG]	
GalXC-STAT3-4110-C18	36 mer modificado		[mAs][mU][mC][mA][mA][mU][mG][fU][fU][fC][fU][mU][mU][mA][mG][mU][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-C18][mA][mA][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	81
GalXC-STAT3-4110-C18	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fA][fA][mC][fU][mA][mA][fA][mG][mA][mA][fC][mA][mU][mU][mG][mA][mUs][mGs][mG]	82
GalXC-STAT3-4123-C18	36 mer modificado		[mAs][mG][mU][mU][mA][mU][mA][fC][fA][fA][fU][mA][mA][mG][mC][mU][mG][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-C18][mA][mA][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	83
GalXC-STAT3-4123-C18	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fU][fC][fA][mG][fC][mU][mU][fA][mU][mU][mG][fU][mA][mU][mA][mA][mC][mUs][mGs][mG]	84
	STAT3 Humano (Hs) NM_00136 9512.1 (Genbank RefSeq #)		GTCTGCAGCCGAGGGAACAAGCCCCA ACCGGATCCTGGACAGGCACCCCGGC TTGGCGCTGTCTCTCCCCCTCGGCTCG GAGAGGCCCTTCGGCCTGAGGGAGCC TCGCCGCCCGTCCCCGGCACACGCGC AGCCCCGGCCTCTCGGCCTCTGCCGG AGAAACAGGATGGCCCAATGGAATC AGCTACAGCAGCTTGACACACGGTAC CTGGAGCAGCTCCATCAGCTCTACAG TGACAGCTTCCCAATGGAGCTGCGGC AGTTTCTGGCCCCTTGGAATTGAGAGT CAAGATTGGGCATATGCGGCCAGCAA AGAATCACATGCCACTTTGGTGTTTC ATAATCTCCTGGGAGAGATTGACCAG CAGTATAGCCGCTTCCTGCAAGAGTC GAATGTTCTCTATCAGCACAATCTAC GAAGAATCAAGCAGTTTCTTCAGAGC AGGTATCTTGAGAAGCCAATGGAGAT TGCCCGGATTGTGGCCCGGTGCCTGT GGGAAGAATCACGCCTTCTACAGACT GCAGCCACTGCGGCCCAAGCAAGGGG GCCAGGCCAACCACCCACAGCAGCC GTGGTGACGGAGAAGCAGCAGATGC	85

			TGGAGCAGCACCTTCAGGATGTCCGG AAGAGAGTGCAGGATCTAGAACAGA AAATGAAAGTGGTAGAGAATCTCCA GGATGACTTTGATTTCAACTATAAAA CCCTCAAGAGTCAAGGAGACATGCA AGATCTGAATGGAAACAACCAAGTCA GTGACCAGGCAGAAGATGCAGCAGC TGGAACAGATGCTCACTGCGCTGGAC CAGATGCGGAGAAGCATCGTGAGTG AGCTGGCGGGGCTTTTGTGACCGATG GAGTACGTGCAGAAAACCTCTCACGGA CGAGGAGCTGGCTGACTGGAAGAGG CGGCAACAGATTGCCTGCATTGGAGG CCCGCCCAACATCTGCCTAGATCGGC TAGAAAACCTGGATAACGTCATTAGCA GAATCTCAACTTCAGACCCGTCAACA AATTAAGAACTGGAGGAGTTGCAG CAAAAAGTTTCCTACAAAGGGGACCC CATTGTACAGCACCGGCCGATGCTGG AGGAGAGAATCGTGGAGCTGTTTAGA AACTTAATGAAAAGTGCCTTTGTGGT GGAGCGGCAGCCCTGCATGCCCATGC ATCCTGACCGGCCCCCTCGTCATCAAG ACCGGCGTCCAGTTCACTACTAAAGT CAGGTTGCTGGTCAAATTCCCTGAGT TGAATTATCAGCTTAAAATTAAAGTG TGCATTGACAAAGACTCTGGGGACGT TGCAGCTCTCAGAGGATCCCGGAAAT TTAACATTCTGGGCACAAACACAAAA GTGATGAACATGGAAGAATCCAACA ACGGCAGCCTCTCTGCAGAATTCAAA CACTTGACCCTGAGGGAGCAGAGATG TGGAATGGGGGCCGAGCCAATTGTG ATGCTTCCCTGATTGTGACTGAGGAG CTGCACCTGATCACCTTTGAGACCGA GGTGTATCACCAAGGCCTCAAGATTG ACCTAGAGACCCACTCCT TGCCAGTTGTGGTGATCTCCAACATC TGTCAGATGCCAAATGCCTGGGCGTC CATCCTGTGGTACAACATGCTGACCA ACAATCCCAAGAATGTAACTTTTTT ACCAAGCCCCCAATTGGAACCTGGGA TCAAGTGGCCGAGGTCCTGAGCTGGC AGTTCTCCTCCACCACCAAGCGAGGA CTGAGCATCGAGCAGCTGACTACACT GGCAGAGAACTCTTGGGACCTGGTG TGAATTATTCAGGGTGTGAGATCACA	
--	--	--	--	--

			TGGGCTAAATTTTGCAAAGAAAACAT GGCTGGCAAGGGCTTCTCCTTCTGGG TCTGGCTGGACAATATCATTGACCTT GTGAAAAAGTACATCCTGGCCCTTTG GAACGAAGGGTACATCATGGGCTTTA TCAGTAAGGAGCGGGAGCGGGCCAT CTTGAGCACTAAGCCTCCAGGCACCT TCCTGCTAAGATTTCAGTGAAAGCAGC AAAGAAGGAGGCGTCACTTTCCTTG GGTGGAGAAGGACATCAGCGGTAAG ACCCAGATCCAGTCCGTGGAACCATA CACAAAGCAGCAGCTGAACAACATG TCATTTGCTGAAATCATCATGGGCTA TAAGATCATGGATGCTACCAATATCC TGGTGTCTCCACTGGTCTATCTCTATC CTGACATTCCCAAGGAGGAGGCATTC GGAAAGTATTGTCGGCCAGAGAGCC AGGAGCATCCTGAAGCTGACCCAGGT AGCGCTGCCCCATACCTGAAGACCAA GTTTATCTGTGTGACACCA ACGACCTGCAGCAATAACCATTGACCT GCCGATGTCCCCCGCACTTTAGATT CATTGATGCAGTTTGGAAATAATGGT GAAGGTGCTGAACCCTCAGCAGGAG GGCAGTTTGAGTCCCTCACCTTTGAC ATGGAGTTGACCTCGGAGTGCGCTAC CTCCCCCATGTGAGGAGCTGAGAACG GAAGCTGCAGAAAGATACGACTGAG GCGCCTACCTGCATTCTGCCACCCCT CACACAGCCAAACCCAGATCATCTG AACTACTAACTTTGTGGTTCCAGAT TTTTTTTAATCTCCTACTTCTGCTATC TTTGAGCAATCTGGGCACTTTTAAAA ATAGAGAAATGAGTGAATGTGGGTG ATCTGCTTTTATCTAAATGCAAATAA GGATGTGTTCTCTGAGACCCATGATC AGGGGATGTGGCGGGGGGTGGCTAG AGGGAGAAAAAGGAAATGTCTTGTG TTGTTTTGTTCCCCTGCCCTCCTTTCT CAGCAGCTTTTTGTTATTGTTGTTGTT GTTCTTAGACAAGTGCCTCCTGGTGC CTGCGGCATCCTTCTGCCTGTTTCTGT AAGCAAATGCCACAGGCCACCTATAG CTACATACTCCTGGCATTGCACTTTTT AACCTTGCTGACATCCAAATAGAAGA TAGGACTATCTAAGCCCTAGGTTTCT TTTTAAATTAAGAAATAATAACAATT	
--	--	--	---	--

			AAAGGGCAAAAAACACTGTATCAGC ATAGCCTTTCTGTATTTAAGAACTT AAGCAGCCGGGCATGGTGGCTCACGC CTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCC GAGGCGGATCATAAGGTCAGGAGAT CAAGACCATCCTGGCTAACACGGTGA AACCCCGTCTCTACTAAAAGTACAAA AAATTAGCTGGGTGTGGTGGTGGGCG CC TGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCTG AGGCAGGAGAATCGCTTGAACCTGA GAGGCGGAGGTTGCAGTGAGCCAAA ATTGCACCACTGCACACTGCACTCCA TCCTGGGCGACAGTCTGAGACTCTGT CTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGA AACTTCAGTTAACAGCCTCCTTGGTG CTTTAAGCATTGAGCTTCCTTCAGGCT GGTAATTTATATAATCCCTGAAACGG GCTTCAGGTCAAACCCTTAAGACATC TGAAGCTGCAACCTGGCCTTTGGTGT TGAAATAGGAAGGTTTAAGGAGAAT CTAAGCATTTTAGACTTTTTTTTATAA ATAGACTTATTTTCCTTTGTAATGTAT TGGCCTTTTAGTGAGTAAGGCTGGGC AGAGGGTGCTTACAACCTTGACTCCC TTTCTCCCTGGACTTGATCTGCTGTTT CAGAGGCTAGGTTGTTTCTGTGGGTG CCTTATCAGGGCTGGGATACTTCTGA TTCTGGCTTCCTTCCTGCCCCACCCTC CCGACCCAGTCCCCCTGATCCTGCT AGAGGCATGTCTCCTTGCGTGTCTAA AGGTCCCTCATCCTGTTTGTTTTAGGA ATCCTGGTCTCAGGACCTCATGGAAG AAGAGGGGGAGAGAGTTACAGGTTG GACATGATGCACACTATGGGGCCCCA GCGACGTGTCTGGTTGAGCTCAGGGA ATATGGTTCTTAGCCAGTTTCTTGGTG ATATCCAGTGGCACTTGTAATGGCGT CTTCATTGAGTTCA TGCAGGGCAAAGGCTTACTGATAAAC TTGAGTCTGCCCTCGTATGAGGGTGT ATACCTGGCCTCCCTCTGAGGCTGGT GACTCCTCCCTGCTGGGGCCCCACAG GTGAGGCAGAACAGCTAGAGGGCCT CCCCGCCTGCCCGCCTTGGCTGGCTA GCTCGCCTCTCCTGTGCGTATGGGAA CACCTAGCACGTGCTGGATGGGCTGC	
--	--	--	---	--

			CTCTGACTCAGAGGCATGGCCGGATT TGGCAACTCAAAACCACCTTGCCTCA GCTGATCAGAGTTTCTGTGGAATTCT GTTTGTAAATCAAATTAGCTGGTCT CTGAATTAAGGGGGAGACGACCTTCT CTAAGATGAACAGGGTTCGCCCCAGT CCTCCTGCCTGGAGACAGTTGATGTG TCATGCAGAGCTCTTACTTCTCCAGC AACACTCTTCAGTACATAATAAGCTT AACTGATAAACAGAATATTTAGAAAG GTGAGACTTGGGCTTACCATTGGGTT TAAATCATAGGGACCTAGGGCGAGG GTTCAGGGCTTCTCTGGAGCAGATAT TGTCAAGTTCATGGCCTTAGGTAGCA TGTATCTGGTCTTAACTCTGATTGTAG CAAAAGTTCTGAGAGGAGCTGAGCCC TGTTGTGGCCCATTAAGAACAGGGT CCTCAGGCCCTGCCCGCTTCCTGTCC ACTGCCCCCTCCCCATCCCCAGCCA GCCGAGGGAATCCCGTGGGTGCTTA CCTACCTATAAGGTGGTTTATAAGCT GCTGTCCTGGCCACTGCATTCAAATT CCAATGTGTACTTCATAGTGTA AAAA TTTATATTATTGTGAGGTTTTTTGTCT TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGTATAT TGCTGTATCTACTTTAACTTCCAGAA ATAAACGTTATATAGGAACCGTC	
	Estructura de tallo y lazo		GCAGCCGAAAGGCUGC	86
GalXC- STAT3- 2029	36 mer modificado		[mAs][mU][mC][mA][mA][mU][mG][fU][f U][fC][fU][mU][mU][mA][mG][mU][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][m C][mG][ademA- C18][mA][mA][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	87
STAT3- 4123- C18	36 mer modificado		[mAs][mG][mU][mU][mA][mU][mA][fC][f A][fA][fU][mA][mA][mG][mC][mU][mG][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][m C][mG][ademA- C18][mA][mA][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	88
STAT3- 370	Sentido 19 mer		CACUUUGGUGUUUCAUAAU	89

STAT3-372	Sentido 19mer		CUUUGGUGUUUCAUAAUCU	90
STAT3-424	Sentido 19mer		CCUGCAAGAGUCGAAUGUU	91
STAT3-425	Sentido 19mer		CUGCAAGAGUCGAAUGUUC	92
STAT3-426	Sentido 19mer		UGCAAGAGUCGAAUGUUCU	93
STAT3-429	Sentido 19mer		AAGAGUCGAAUGUUCUCUA	94
STAT3-430	Sentido 19mer		AGAGUCGAAUGUUCUCUAU	95
STAT3-432	Sentido 19mer		AGUCGAAUGUUCUCUAUCA	96
STAT3-433	Sentido 19mer		GUCGAAUGUUCUCUAUCAG	97
STAT3-460	Sentido 19mer		ACGAAGAAUCAAGCAGUUU	98
STAT3-461	Sentido 19mer		CGAAGAAUCAAGCAGUUUC	99
STAT3-462	Sentido 19mer		GAAGAAUCAAGCAGUUUCU	100
STAT3-492	Sentido 19mer		AUCUUGAGAAGCCAAUGGA	101
STAT3-678	Sentido 19mer		AGGAUCUAGAACAGAAAAU	102
STAT3-681	Sentido 19mer		AUCUAGAACAGAAAAUGAA	103
STAT3-715	Sentido 19mer		CCAGGAUGACUUUGAUUUC	104
STAT3-716	Sentido 19mer		CAGGAUGACUUUGAUUUCA	105
STAT3-717	Sentido 19mer		AGGAUGACUUUGAUUUCAA	106
STAT3-720	Sentido 19mer		AUGACUUUGAUUUCAACUA	107
STAT3-721	Sentido 19mer		UGACUUUGAUUUCAACUAU	108
STAT3-722	Sentido 19mer		GACUUUGAUUUCAACUAUA	109
STAT3-723	Sentido 19mer		ACUUUGAUUUCAACUAUAA	110
STAT3-724	Sentido 19mer		CUUUGAUUUCAACUAUAAA	111
STAT3-768	Sentido 19mer		AAGAUCUGAAUGGAAACAA	112

STAT3-771	Sentido 19mer		AUCUGAAUGGAAACAACCA	113
STAT3-773	Sentido 19mer		CUGAAUGGAAACAACCAGU	114
STAT3-1000	Sentido 19mer		AGAAACUGGAUAACGUCA	115
STAT3-1001	Sentido 19mer		GAAAACUGGAUAACGUCAU	116
STAT3-1003	Sentido 19mer		AAACUGGAUAACGUCAUUA	117
STAT3-1006	Sentido 19mer		CUGGAUAACGUCAUUAGCA	118
STAT3-1008	Sentido 19mer		GGAUAACGUCAUUAGCAGA	119
STAT3-1009	Sentido 19mer		GAUAACGUCAUUAGCAGAA	120
STAT3-1010	Sentido 19mer		AUAACGUCAUUAGCAGAAU	121
STAT3-1047	Sentido 19mer		AACAAAUUAAGAAACUGGA	122
STAT3-1067	Sentido 19mer		GAGUUGCAGCAAAAAGUUU	123
STAT3-1068	Sentido 19mer		AGUUGCAGCAAAAAGUUUC	124
STAT3-1145	Sentido 19mer		CUGUUUAGAAACUUA AUGA	125
STAT3-1151	Sentido 19mer		AGAAACUUA AUGAAAAGUG	126
STAT3-1241	Sentido 19mer		CAGUUCACUACUAAAGUCA	127
STAT3-1268	Sentido 19mer		GUCAAAUUCCCUGAGUUGA	128
STAT3-1272	Sentido 19mer		AAUUCCCUGAGUUGAAUUA	129
STAT3-1273	Sentido 19mer		AUUCCCUGAGUUGAAUUAU	130
STAT3-1275	Sentido 19mer		UCCCUGAGUUGAAUUAUCA	131
STAT3-1277	Sentido 19mer		CCUGAGUUGAAUUAUCAGC	132
STAT3-1278	Sentido 19mer		CUGAGUUGAAUUAUCAGCU	133
STAT3-1279	Sentido 19mer		UGAGUUGAAUUAUCAGCUU	134
STAT3-1280	Sentido 19mer		GAGUUGAAUUAUCAGCUUA	135

STAT3-1281	Sentido 19mer		AGUUGAAUUAUCAGCUUAA	136
STAT3-1282	Sentido 19mer		GUUGAAUUAUCAGCUUAAA	137
STAT3-1283	Sentido 19mer		UUGAAUUAUCAGCUUAAAA	138
STAT3-1284	Sentido 19mer		UGAAUUAUCAGCUUAAAAU	139
STAT3-1286	Sentido 19mer		AAUUAUCAGCUUAAAAUUA	140
STAT3-1287	Sentido 19mer		AUUAUCAGCUUAAAAUUA	141
STAT3-1292	Sentido 19mer		CAGCUUAAAAUUAAGUGU	142
STAT3-1293	Sentido 19mer		AGCUUAAAAUUAAGUGUG	143
STAT3-1299	Sentido 19mer		AAAUUAAGUGUGCAUUGA	144
STAT3-1305	Sentido 19mer		AAGUGUGCAUUGACAAAGA	145
STAT3-1383	Sentido 19mer		CAAAAGUGAUGAACAUGGA	146
STAT3-1388	Sentido 19mer		GUGAUGAACAUGGAAGAAU	147
STAT3-1427	Sentido 19mer		GCAGAAUCAAACACUUGA	148
STAT3-1485	Sentido 19mer		AUUGUGAUGCUUCCCUGAU	149
STAT3-1584	Sentido 19mer		CCUUGCCAGUUGUGGUGAU	150
STAT3-1586	Sentido 19mer		UUGCCAGUUGUGGUGAUCU	151
STAT3-1670	Sentido 19mer		CCCAAGAAUGUAAACUUUU	152
STAT3-1671	Sentido 19mer		CCAAGAAUGUAAACUUUUU	153
STAT3-1672	Sentido 19mer		CAAGAAUGUAAACUUUUUU	154
STAT3-1673	Sentido 19mer		AAGAAUGUAAACUUUUUUA	155
STAT3-1674	Sentido 19mer		AGAAUGUAAACUUUUUUAC	156
STAT3-1676	Sentido 19mer		AAUGUAAACUUUUUUACCA	157
STAT3-1813	Sentido 19mer		ACCUGGUGUGAAUUAUUCA	158

STAT3-1815	Sentido 19mer		CUGGUGUGAAUUAUUCAGG	159
STAT3-1817	Sentido 19mer		GGUGUGAAUUAUUCAGGGU	160
STAT3-1819	Sentido 19mer		UGUGAAUUAUUCAGGGUGU	161
STAT3-1904	Sentido 19mer		CUGGACAAUAUCAUUGACC	162
STAT3-1906	Sentido 19mer		GGACAAUAUCAUUGACCUU	163
STAT3-1907	Sentido 19mer		GACAAUAUCAUUGACCUUG	164
STAT3-1908	Sentido 19mer		ACAAUAUCAUUGACCUUGU	165
STAT3-1909	Sentido 19mer		CAAUAUCAUUGACCUUGUG	166
STAT3-1910	Sentido 19mer		AAUAUCAUUGACCUUGUGA	167
STAT3-1911	Sentido 19mer		AUAUCAUUGACCUUGUGAA	168
STAT3-1912	Sentido 19mer		UAUCAUUGACCUUGUGAAA	169
STAT3-1913	Sentido 19mer		AUCAUUGACCUUGUGAAAA	170
STAT3-1914	Sentido 19mer		UCAUUGACCUUGUGAAAAA	171
STAT3-1916	Sentido 19mer		AUUGACCUUGUGAAAAAGU	172
STAT3-1917	Sentido 19mer		UUGACCUUGUGAAAAAGUA	173
STAT3-1919	Sentido 19mer		GACCUUGUGAAAAAGUACA	174
STAT3-1920	Sentido 19mer		ACCUUGUGAAAAAGUACAU	175
STAT3-2024	Sentido 19mer		ACCUUCCUGCUAAGAUUCA	176
STAT3-2135	Sentido 19mer		AAGCAGCAGCUGAACAACA	177
STAT3-2136	Sentido 19mer		AGCAGCAGCUGAACAACAU	178
STAT3-2138	Sentido 19mer		CAGCAGCUGAACAACAUGU	179
STAT3-2139	Sentido 19mer		AGCAGCUGAACAACAUGUC	180
STAT3-2143	Sentido 19mer		GCUGAACAACAUGUCAUUU	181

STAT3-2144	Sentido 19mer		CUGAACAACAUGUCAUUUG	182
STAT3-2145	Sentido 19mer		UGAACAACAUGUCAUUUGC	183
STAT3-2146	Sentido 19mer		GAACAACAUGUCAUUUGCU	184
STAT3-2147	Sentido 19mer		AACAACAUGUCAUUUGCUG	185
STAT3-2148	Sentido 19mer		ACAACAUGUCAUUUGCUGA	186
STAT3-2151	Sentido 19mer		ACAUGUCAUUUGCUGAAAU	187
STAT3-2153	Sentido 19mer		AUGUCAUUUGCUGAAAUCA	188
STAT3-2154	Sentido 19mer		UGUCAUUUGCUGAAAUCAU	189
STAT3-2159	Sentido 19mer		UUUGCUGAAAUCAUCAUGG	190
STAT3-2322	Sentido 19mer		CAUACCUGAAGACCAAGUU	191
STAT3-2325	Sentido 19mer		ACCUGAAGACCAAGUUUAU	192
STAT3-2327	Sentido 19mer		CUGAAGACCAAGUUUAUCU	193
STAT3-2329	Sentido 19mer		GAAGACCAAGUUUAUCUGU	194
STAT3-2333	Sentido 19mer		ACCAAGUUUAUCUGUGUGA	195
STAT3-2335	Sentido 19mer		CAAGUUUAUCUGUGUGACA	196
STAT3-2404	Sentido 19mer		AGAUUCAUUGAUGCAGUUU	197
STAT3-2405	Sentido 19mer		GAUUCAUUGAUGCAGUUUG	198
STAT3-2407	Sentido 19mer		UUCAUUGAUGCAGUUUGGA	199
STAT3-2408	Sentido 19mer		UCAUUGAUGCAGUUUGGAA	200
STAT3-2411	Sentido 19mer		UUGAUGCAGUUUGGAAUA	201
STAT3-2412	Sentido 19mer		UGAUGCAGUUUGGAAUAA	202
STAT3-2413	Sentido 19mer		GAUGCAGUUUGGAAUAAU	203
STAT3-2416	Sentido 19mer		GCAGUUUGGAAUAAUGGU	204

STAT3-2418	Sentido 19mer		AGUUUGGAAAUA AUGGUGA	205
STAT3-2422	Sentido 19mer		UGGAAAUA AUGGUGAAGGU	206
STAT3-2427	Sentido 19mer		AUA AUGGUGAAGGUGCUGA	207
STAT3-2612	Sentido 19mer		CUGAAACUACUAACUUUGU	208
STAT3-2615	Sentido 19mer		AAACUACUAACUUUGUGGU	209
STAT3-2616	Sentido 19mer		AACUACUAACUUUGUGGUU	210
STAT3-2617	Sentido 19mer		ACUACUAACUUUGUGGUUC	211
STAT3-2622	Sentido 19mer		UAACUUUGUGGUUCCAGAU	212
STAT3-2625	Sentido 19mer		CUUUGUGGUUCCAGAUUUU	213
STAT3-2626	Sentido 19mer		UUUGUGGUUCCAGAUUUUU	214
STAT3-2627	Sentido 19mer		UUGUGGUUCCAGAUUUUUU	215
STAT3-2692	Sentido 19mer		AAAUAGAGAAAUGAGUGAA	216
STAT3-2693	Sentido 19mer		AAUAGAGAAAUGAGUGAAU	217
STAT3-2715	Sentido 19mer		GGUGAUCUGCUUUUAUCUA	218
STAT3-2719	Sentido 19mer		AUCUGCUUUUAUCUAAAUG	219
STAT3-2721	Sentido 19mer		CUGCUUUUAUCUAAAUGCA	220
STAT3-2735	Sentido 19mer		AUGCAAUAAGGAUGUGUU	221
STAT3-2741	Sentido 19mer		AUAAGGAUGUGUUCUCUGA	222
STAT3-2801	Sentido 19mer		GAAAAAGGAAAUGUCUUGU	223
STAT3-2803	Sentido 19mer		AAAAGGAAAUGUCUUGUGU	224
STAT3-2804	Sentido 19mer		AAAGGAAAUGUCUUGUGUU	225
STAT3-2806	Sentido 19mer		AGGAAAUGUCUUGUGUUGU	226
STAT3-2807	Sentido 19mer		GGAAAUGUCUUGUGUUGUU	227

STAT3-2808	Sentido 19mer		GAAAUGUCUUGUGUUGUUU	228
STAT3-2809	Sentido 19mer		AAAUGUCUUGUGUUGUUUU	229
STAT3-2810	Sentido 19mer		AAUGUCUUGUGUUGUUUUG	230
STAT3-2811	Sentido 19mer		AUGUCUUGUGUUGUUUUGU	231
STAT3-2812	Sentido 19mer		UGUCUUGUGUUGUUUUGUU	232
STAT3-2813	Sentido 19mer		GUCUUGUGUUGUUUUGUUC	233
STAT3-2846	Sentido 19mer		CUCAGCAGCUUUUUGUUAU	234
STAT3-2848	Sentido 19mer		CAGCAGCUUUUUGUUAUUG	235
STAT3-2849	Sentido 19mer		AGCAGCUUUUUGUUAUUGU	236
STAT3-2850	Sentido 19mer		GCAGCUUUUUGUUAUUGUU	237
STAT3-2851	Sentido 19mer		CAGCUUUUUGUUAUUGUUG	238
STAT3-2852	Sentido 19mer		AGCUUUUUGUUAUUGUUGU	239
STAT3-2853	Sentido 19mer		GCUUUUUGUUAUUGUUGUU	240
STAT3-2854	Sentido 19mer		CUUUUUGUUAUUGUUGUUG	241
STAT3-2855	Sentido 19mer		UUUUUGUUAUUGUUGUUGU	242
STAT3-2856	Sentido 19mer		UUUUGUUAUUGUUGUUGUU	243
STAT3-2857	Sentido 19mer		UUUGUUAUUGUUGUUGUUG	244
STAT3-2858	Sentido 19mer		UUGUUAUUGUUGUUGUUGU	245
STAT3-2859	Sentido 19mer		UGUUAUUGUUGUUGUUGUU	246
STAT3-2860	Sentido 19mer		GUUAUUGUUGUUGUUGUUC	247
STAT3-2861	Sentido 19mer		UUAUUGUUGUUGUUGUUCU	248
STAT3-2862	Sentido 19mer		UAUUGUUGUUGUUGUUCUU	249
STAT3-2863	Sentido 19mer		AUUGUUGUUGUUGUUCUUA	250

STAT3-2865	Sentido 19mer		UGUUGUUGUUGUUCUUAGA	251
STAT3-2867	Sentido 19mer		UUGUUGUUGUUCUUAGACA	252
STAT3-2868	Sentido 19mer		UGUUGUUGUUCUUAGACAA	253
STAT3-2975	Sentido 19mer		CUUUUUAACCUUGCUGACA	254
STAT3-2979	Sentido 19mer		UUAACCUUGCUGACAUCCA	255
STAT3-2985	Sentido 19mer		UUGCUGACAUCCAAAUAGA	256
STAT3-3025	Sentido 19mer		AGGUUUCUUUUUAAAUUAA	257
STAT3-3037	Sentido 19mer		AAAUUAAGAAAUAAUAACA	258
STAT3-3038	Sentido 19mer		AAUUAAGAAAUAAUAACAA	259
STAT3-3039	Sentido 19mer		AUUAAGAAAUAAUAACAAU	260
STAT3-3041	Sentido 19mer		UAAGAAAUAAUAACAAUUA	261
STAT3-3042	Sentido 19mer		AAGAAAUAAUAACAAUUA	262
STAT3-3043	Sentido 19mer		AGAAAUAAUAACAAUUA	263
STAT3-3225	Sentido 19mer		ACUAAAAGUACAAAAAAU	264
STAT3-3226	Sentido 19mer		CUAAAAGUACAAAAAAUUA	265
STAT3-3605	Sentido 19mer		AGACUUAUUUCCUUUGUA	266
STAT3-3611	Sentido 19mer		AUUUCCUUUGUAAUGUAU	267
STAT3-3906	Sentido 19mer		AGUUACAGGUUGGACAUGA	268
STAT3-4311	Sentido 19mer		UGUGGAAUUCUGUUUGUUA	269
STAT3-4314	Sentido 19mer		GGAAUUCUGUUUGUUA	270
STAT3-4317	Sentido 19mer		AUUCUGUUUGUUA	271
STAT3-4321	Sentido 19mer		UGUUUGUUA	272
STAT3-4465	Sentido 19mer		ACAUAUAAGCUAACUGA	273

STAT3-4479	Sentido 19 mer		ACUGAUAAACAGAAUAUUU	274
STAT3-4480	Sentido 19 mer		CUGAUAAACAGAAUAUUUA	275
STAT3-4831	Sentido 19 mer		UAGUGUAAAAAUUUAUAUU	276
STAT3-4833	Sentido 19 mer		GUGUAAAAAUUUAUAUUAU	277
STAT3-4836	Sentido 19 mer		UAAAAAUUUAUAUUAUUGU	278
STAT3-4837	Sentido 19 mer		AAAAAUUUAUAUUAUUGUG	279
STAT3-4909	Sentido 19 mer		UUUAACUUCCAGAAUAAA	280
STAT3-370	Antisentido 19 mer		AUUAUGAAACACCAAAGUG	281
STAT3-372	Antisentido 19 mer		AGAUUAUGAAACACCAAAG	282
STAT3-424	Antisentido 19 mer		AACAUUCGACUCUUGCAGG	283
STAT3-425	Antisentido 19 mer		GAACAUUCGACUCUUGCAG	284
STAT3-426	Antisentido 19 mer		AGAACAUUCGACUCUUGCA	285
STAT3-429	Antisentido 19 mer		UAGAGAACAUUCGACUCUU	286
STAT3-430	Antisentido 19 mer		AUAGAGAACAUUCGACUCU	287
STAT3-432	Antisentido 19 mer		UGAUAGAGAACAUUCGACU	288
STAT3-433	Antisentido 19 mer		CUGAUAGAGAACAUUCGAC	289
STAT3-460	Antisentido 19 mer		AAACUGCUUGAUUCUUCGU	290
STAT3-461	Antisentido 19 mer		GAAACUGCUUGAUUCUUCG	291
STAT3-462	Antisentido 19 mer		AGAAACUGCUUGAUUCUUC	292
STAT3-492	Antisentido 19 mer		UCCAUUGGCUUCUCAAGAU	293
STAT3-678	Antisentido 19 mer		AUUUUCUGUUCUAGAUCU	294
STAT3-681	Antisentido 19 mer		UUCAUUUUCUGUUCUAGAU	295
STAT3-715	Antisentido 19 mer		GAAAUCAAAGUCAUCCUGG	296

STAT3-716	Antisentido 19 mer		UGAAAUCAAAGUCAUCCUG	297
STAT3-717	Antisentido 19 mer		UUGAAAUCAAAGUCAUCCU	298
STAT3-720	Antisentido 19 mer		UAGUUGAAAUCAAAGUCAU	299
STAT3-721	Antisentido 19 mer		AUAGUUGAAAUCAAAGUCA	300
STAT3-722	Antisentido 19 mer		UAUAGUUGAAAUCAAAGUC	301
STAT3-723	Antisentido 19 mer		UUAUAGUUGAAAUCAAAGU	302
STAT3-724	Antisentido 19 mer		UUUAUAGUUGAAAUCAAAG	303
STAT3-768	Antisentido 19 mer		UUGUUUCCAUCAGAUUUU	304
STAT3-771	Antisentido 19 mer		UGGUUGUUUCCAUCAGAU	305
STAT3-773	Antisentido 19 mer		ACUGGUUGUUUCCAUCAG	306
STAT3-1000	Antisentido 19 mer		UGACGUUAUCCAGUUUUCU	307
STAT3-1001	Antisentido 19 mer		AUGACGUUAUCCAGUUUUC	308
STAT3-1003	Antisentido 19 mer		UAAUGACGUUAUCCAGUUU	309
STAT3-1006	Antisentido 19 mer		UGCUA AUGACGUUAUCCAG	310
STAT3-1008	Antisentido 19 mer		UCUGCUA AUGACGUUAUCC	311
STAT3-1009	Antisentido 19 mer		UUCUGCUA AUGACGUUAUC	312
STAT3-1010	Antisentido 19 mer		AUUCUGCUA AUGACGUUAU	313
STAT3-1047	Antisentido 19 mer		UCCAGUUUCUUA AUUUGUU	314
STAT3-1067	Antisentido 19 mer		AAACUUUUUGCUGCAACUC	315
STAT3-1068	Antisentido 19 mer		GAAACUUUUUGCUGCAACU	316
STAT3-1145	Antisentido 19 mer		UCAUUAAGUUUCUAAACAG	317
STAT3-1151	Antisentido 19 mer		CACUUUUCAUUAAGUUUCU	318
STAT3-1241	Antisentido 19 mer		UGACUUUAGUAGUGAACUG	319

STAT3-1268	Antisentido 19 mer		UCAACUCAGGGAAUUUGAC	320
STAT3-1272	Antisentido 19 mer		UAAUUCAACUCAGGGAAUU	321
STAT3-1273	Antisentido 19 mer		AUAAUUCAACUCAGGGAAU	322
STAT3-1275	Antisentido 19 mer		UGAUAAUUCAACUCAGGGA	323
STAT3-1277	Antisentido 19 mer		GCUGAUAAUUCAACUCAGG	324
STAT3-1278	Antisentido 19 mer		AGCUGAUAAUUCAACUCAG	325
STAT3-1279	Antisentido 19 mer		AAGCUGAUAAUUCAACUCA	326
STAT3-1280	Antisentido 19 mer		UAAGCUGAUAAUUCAACUC	327
STAT3-1281	Antisentido 19 mer		UUAAGCUGAUAAUUCAACU	328
STAT3-1282	Antisentido 19 mer		UUUAAGCUGAUAAUUCAAC	329
STAT3-1283	Antisentido 19 mer		UUUUAAGCUGAUAAUUCAA	330
STAT3-1284	Antisentido 19 mer		AUUUUAAGCUGAUAAUUCA	331
STAT3-1286	Antisentido 19 mer		UAAUUUUAAGCUGAUAAUU	332
STAT3-1287	Antisentido 19 mer		UUAAUUUUAAGCUGAUAAU	333
STAT3-1292	Antisentido 19 mer		ACACUUUAAUUUUUAAGCUG	334
STAT3-1293	Antisentido 19 mer		CACACUUUAAUUUUUAAGCU	335
STAT3-1299	Antisentido 19 mer		UCAAUGCACACUUUAAUUU	336
STAT3-1305	Antisentido 19 mer		UCUUUGUCAAUGCACACUU	337
STAT3-1383	Antisentido 19 mer		UCCAUGUUCAUCACUUUUG	338
STAT3-1388	Antisentido 19 mer		AUUCUCCAUGUUCAUCAC	339
STAT3-1427	Antisentido 19 mer		UCAAGUGUUUGAAUUCUGC	340
STAT3-1485	Antisentido 19 mer		AUCAGGGAAGCAUCACAAU	341
STAT3-1584	Antisentido 19 mer		AUCACCACAACUGGCAAGG	342

STAT3-1586	Antisentido 19 mer		AGAUCACCACAACUGGCAA	343
STAT3-1670	Antisentido 19 mer		AAAAGUUUACAUUCUUGGG	344
STAT3-1671	Antisentido 19 mer		AAAAAGUUUACAUUCUUGG	345
STAT3-1672	Antisentido 19 mer		AAAAAAGUUUACAUUCUUG	346
STAT3-1673	Antisentido 19 mer		UAAAAAAGUUUACAUUCUU	347
STAT3-1674	Antisentido 19 mer		GUAAAAAAGUUUACAUUCU	348
STAT3-1676	Antisentido 19 mer		UGGUAAAAAAGUUUACAUU	349
STAT3-1813	Antisentido 19 mer		UGAAUAAUUCACACCAGGU	350
STAT3-1815	Antisentido 19 mer		CCUGAAUAAUUCACACCAG	351
STAT3-1817	Antisentido 19 mer		ACCCUGAAUAAUUCACACC	352
STAT3-1819	Antisentido 19 mer		ACACCCUGAAUAAUUCACA	353
STAT3-1904	Antisentido 19 mer		GGUCA AUGAU AUUGUCCAG	354
STAT3-1906	Antisentido 19 mer		AAGGUCAAUGAU AUUGUCC	355
STAT3-1907	Antisentido 19 mer		CAAGGUCAAUGAU AUUGUC	356
STAT3-1908	Antisentido 19 mer		ACAAGGUCAAUGAU AUUGU	357
STAT3-1909	Antisentido 19 mer		CACAAGGUCAAUGAU AUUG	358
STAT3-1910	Antisentido 19 mer		UCACAAGGUCAAUGAU AUU	359
STAT3-1911	Antisentido 19 mer		UUCACAAGGUCAAUGAU AU	360
STAT3-1912	Antisentido 19 mer		UUUCACAAGGUCAAUGAU A	361
STAT3-1913	Antisentido 19 mer		UUUUCACAAGGUCAAUGAU	362
STAT3-1914	Antisentido 19 mer		UUUUUCACAAGGUCAAUGA	363
STAT3-1916	Antisentido 19 mer		ACUUUUUCACAAGGUCAAU	364
STAT3-1917	Antisentido 19 mer		UACUUUUUCACAAGGUCAA	365

STAT3-1919	Antisentido 19 mer		UGUACUUUUUCACAAGGUC	366
STAT3-1920	Antisentido 19 mer		AUGUACUUUUUCACAAGGU	367
STAT3-2024	Antisentido 19 mer		UGAAUCUUAGCAGGAAGGU	368
STAT3-2135	Antisentido 19 mer		UGUUGUUCAGCUGCUGCUU	369
STAT3-2136	Antisentido 19 mer		AUGUUGUUCAGCUGCUGCU	370
STAT3-2138	Antisentido 19 mer		ACAUGUUGUUCAGCUGCUG	371
STAT3-2139	Antisentido 19 mer		GACAUGUUGUUCAGCUGCU	372
STAT3-2143	Antisentido 19 mer		AAAUGACAUGUUGUUCAGC	373
STAT3-2144	Antisentido 19 mer		CAAUGACAUGUUGUUCAG	374
STAT3-2145	Antisentido 19 mer		GCAAUGACAUGUUGUUCA	375
STAT3-2146	Antisentido 19 mer		AGCAAUGACAUGUUGUUC	376
STAT3-2147	Antisentido 19 mer		CAGCAAUGACAUGUUGUU	377
STAT3-2148	Antisentido 19 mer		UCAGCAAUGACAUGUUGU	378
STAT3-2151	Antisentido 19 mer		AUUUCAGCAAUGACAUGU	379
STAT3-2153	Antisentido 19 mer		UGAUUUCAGCAAUGACAU	380
STAT3-2154	Antisentido 19 mer		AUGAUUUCAGCAAUGACA	381
STAT3-2159	Antisentido 19 mer		CCAUGAUGAUUUCAGCAA	382
STAT3-2322	Antisentido 19 mer		AACUUGGUCUUCAGGUAUG	383
STAT3-2325	Antisentido 19 mer		AUAAACUUGGUCUUCAGGU	384
STAT3-2327	Antisentido 19 mer		AGAUAAACUUGGUCUUCAG	385
STAT3-2329	Antisentido 19 mer		ACAGAUAAACUUGGUCUUC	386
STAT3-2333	Antisentido 19 mer		UCACACAGAUAAACUUGGU	387
STAT3-2335	Antisentido 19 mer		UGUCACACAGAUAAACUUG	388

STAT3-2404	Antisentido 19 mer		AAACUGCAUCAAAUGAAUCU	389
STAT3-2405	Antisentido 19 mer		CAAACUGCAUCAAAUGAAUC	390
STAT3-2407	Antisentido 19 mer		UCCAAACUGCAUCAAAUGAA	391
STAT3-2408	Antisentido 19 mer		UUCCAAACUGCAUCAAAUGA	392
STAT3-2411	Antisentido 19 mer		UAUUUCCAAACUGCAUCAA	393
STAT3-2412	Antisentido 19 mer		UUAUUUCCAAACUGCAUCA	394
STAT3-2413	Antisentido 19 mer		AUUAUUUCCAAACUGCAUC	395
STAT3-2416	Antisentido 19 mer		ACCAUUAUUUCCAAACUGC	396
STAT3-2418	Antisentido 19 mer		UCACCAUUAUUUCCAAACU	397
STAT3-2422	Antisentido 19 mer		ACCUUCACCAUUAUUUCCA	398
STAT3-2427	Antisentido 19 mer		UCAGCACCUUCACCAUUAU	399
STAT3-2612	Antisentido 19 mer		ACAAAGUUAGUAGUUUCAG	400
STAT3-2615	Antisentido 19 mer		ACCACAAAGUUAGUAGUUU	401
STAT3-2616	Antisentido 19 mer		AACCACAAAGUUAGUAGUU	402
STAT3-2617	Antisentido 19 mer		GAACCACAAAGUUAGUAGU	403
STAT3-2622	Antisentido 19 mer		AUCUGGAACCACAAAGUUA	404
STAT3-2625	Antisentido 19 mer		AAAAUCUGGAACCACAAAG	405
STAT3-2626	Antisentido 19 mer		AAAAAUCUGGAACCACAAA	406
STAT3-2627	Antisentido 19 mer		AAAAAAUCUGGAACCACAA	407
STAT3-2692	Antisentido 19 mer		UUCACUCAUUUCUCUAUUU	408
STAT3-2693	Antisentido 19 mer		AUUCACUCAUUUCUCUAUU	409
STAT3-2715	Antisentido 19 mer		UAGAUAAAAGCAGAUACC	410
STAT3-2719	Antisentido 19 mer		CAUUUAGAUAAAAGCAGAU	411

STAT3-2721	Antisentido 19 mer		UGCAUUUAGAUAAAAGCAG	412
STAT3-2735	Antisentido 19 mer		AACACAUCCUUAUUUGCAU	413
STAT3-2741	Antisentido 19 mer		UCAGAGAACACAUCCUUAU	414
STAT3-2801	Antisentido 19 mer		ACAAGACAUUUCCUUUUUC	415
STAT3-2803	Antisentido 19 mer		ACACAAGACAUUUCCUUUU	416
STAT3-2804	Antisentido 19 mer		AACACAAGACAUUUCCUUU	417
STAT3-2806	Antisentido 19 mer		ACAACACAAGACAUUUCCU	418
STAT3-2807	Antisentido 19 mer		AACAACACAAGACAUUUCC	419
STAT3-2808	Antisentido 19 mer		AAACAACACAAGACAUUUC	420
STAT3-2809	Antisentido 19 mer		AAAACAACACAAGACAUUU	421
STAT3-2810	Antisentido 19 mer		CAAAACAACACAAGACAUU	422
STAT3-2811	Antisentido 19 mer		ACAAAACAACACAAGACAU	423
STAT3-2812	Antisentido 19 mer		AACAAAACAACACAAGACA	424
STAT3-2813	Antisentido 19 mer		GAACAAAACAACACAAGAC	425
STAT3-2846	Antisentido 19 mer		AUAACAAAAAGCUGCUGAG	426
STAT3-2848	Antisentido 19 mer		CAAUAAACAAAAAGCUGCUG	427
STAT3-2849	Antisentido 19 mer		ACAAUAACAAAAAGCUGCU	428
STAT3-2850	Antisentido 19 mer		AACAAUAACAAAAAGCUGC	429
STAT3-2851	Antisentido 19 mer		CAACAAUAACAAAAAGCUG	430
STAT3-2852	Antisentido 19 mer		ACAACAAUAACAAAAAGCU	431
STAT3-2853	Antisentido 19 mer		AACAACAAUAACAAAAAGC	432
STAT3-2854	Antisentido 19 mer		CAACAACAAUAACAAAAAG	433
STAT3-2855	Antisentido 19 mer		ACAACAACAAUAACAAAAA	434

STAT3-2856	Antisentido 19 mer		AACAACAACAAUAACAAAA	435
STAT3-2857	Antisentido 19 mer		CAACAACAACAAUAACAAA	436
STAT3-2858	Antisentido 19 mer		ACAACAACAACAAUAACAA	437
STAT3-2859	Antisentido 19 mer		AACAACAACAACAAUAACA	438
STAT3-2860	Antisentido 19 mer		GAACAACAACAACAAUAC	439
STAT3-2861	Antisentido 19 mer		AGAACAACAACAACAAUAA	440
STAT3-2862	Antisentido 19 mer		AAGAACAACAACAACAAUA	441
STAT3-2863	Antisentido 19 mer		UAAGAACAACAACAACAAU	442
STAT3-2865	Antisentido 19 mer		UCUAAGAACAACAACAACA	443
STAT3-2867	Antisentido 19 mer		UGUCUAAGAACAACAACAA	444
STAT3-2868	Antisentido 19 mer		UUGUCUAAGAACAACAACA	445
STAT3-2975	Antisentido 19 mer		UGUCAGCAAGGUUAAAAAG	446
STAT3-2979	Antisentido 19 mer		UGGAUGUCAGCAAGGUUAA	447
STAT3-2985	Antisentido 19 mer		UCUAUUUGGAUGUCAGCAA	448
STAT3-3025	Antisentido 19 mer		UUAUUUUAAAAAGAAACCU	449
STAT3-3037	Antisentido 19 mer		UGUUAUUUUUCUUAUUUU	450
STAT3-3038	Antisentido 19 mer		UUGUUAUUUUUCUUAUUU	451
STAT3-3039	Antisentido 19 mer		AUUGUUAUUUUUCUUAUU	452
STAT3-3041	Antisentido 19 mer		UAAUUGUUAUUUUUCUUA	453
STAT3-3042	Antisentido 19 mer		UUAAUUGUUAUUUUUCUU	454
STAT3-3043	Antisentido 19 mer		UUUAAUUGUUAUUUUUCU	455
STAT3-3225	Antisentido 19 mer		AAUUUUUUGUACUUUUAGU	456
STAT3-3226	Antisentido 19 mer		UAAUUUUUUGUACUUUUAG	457

STAT3-3605	Antisentido 19 mer		UACAAAGGAAAAUAAGUCU	458
STAT3-3611	Antisentido 19 mer		AUACAUAACAAAGGAAAAU	459
STAT3-3906	Antisentido 19 mer		UCAUGUCCAACCUGUAACU	460
STAT3-4311	Antisentido 19 mer		UAACAAACAGAAUUCCACA	461
STAT3-4314	Antisentido 19 mer		AUUUAACAAACAGAAUCC	462
STAT3-4317	Antisentido 19 mer		UUGAUUUAAACAAACAGAAU	463
STAT3-4321	Antisentido 19 mer		UAAUUUGAUUUAAACAAACA	464
STAT3-4465	Antisentido 19 mer		UCAGUUAAGCUUAUUAUGU	465
STAT3-4479	Antisentido 19 mer		AAAUAUUCUGUUUAUCAGU	466
STAT3-4480	Antisentido 19 mer		UAAAUAUUCUGUUUAUCAG	467
STAT3-4831	Antisentido 19 mer		AAUAUAAAUUUUUACACUA	468
STAT3-4833	Antisentido 19 mer		AUAAUAUAAAUUUUUACAC	469
STAT3-4836	Antisentido 19 mer		ACAAUAAUAUAAAUUUUUA	470
STAT3-4837	Antisentido 19 mer		CACAAUAAUAUAAAUUUUU	471
STAT3-4909	Antisentido 19 mer		UUUAUUUCUGGAAGUAAA	472
STAT3-370	Hebra sentido de 25 mer		CACUUUGGUGUUUCAUAAUAGCAGC	473
STAT3-372	Hebra sentido de 25 mer		CUUUGGUGUUUCAUAAUCUAGCAGC	474
STAT3-424	Hebra sentido de 25 mer		CCUGCAAGAGUCGAAUGUUAGCAGC	475
STAT3-425	Hebra sentido de 25 mer		CUGCAAGAGUCGAAUGUUCAGCAGC	476
STAT3-426	Hebra sentido de 25 mer		UGCAAGAGUCGAAUGUUCUAGCAGC	477
STAT3-	Hebra		AAGAGUCGAAUGUUCUCUAAGCAGC	478

429	sentido de 25 mer			
STAT3- 430	Hebra sentido de 25 mer		AGAGUCGAAUGUUCUCUAUAGCAGC	479
STAT3- 432	Hebra sentido de 25 mer		AGUCGAAUGUUCUCUAUCAAGCAGC	480
STAT3- 433	Hebra sentido de 25 mer		GUCGAAUGUUCUCUAUCAGAGCAGC	481
STAT3- 460	Hebra sentido de 25 mer		ACGAAGAAUCAAGCAGUUUAGCAGC	482
STAT3- 461	Hebra sentido de 25 mer		CGAAGAAUCAAGCAGUUUCAGCAGC	483
STAT3- 462	Hebra sentido de 25 mer		GAAGAAUCAAGCAGUUUCUAGCAGC	484
STAT3- 492	Hebra sentido de 25 mer		AUCUUGAGAAGCCAAUGGAAGCAGC	485
STAT3- 678	Hebra sentido de 25 mer		AGGAUCUAGAACAGAAAAUAGCAGC	486
STAT3- 681	Hebra sentido de 25 mer		AUCUAGAACAGAAAAUGAAAGCAGC	487
STAT3- 715	Hebra sentido de 25 mer		CCAGGAUGACUUUGAUUUCAGCAGC	488
STAT3- 716	Hebra sentido de 25 mer		CAGGAUGACUUUGAUUUCAAGCAGC	489
STAT3- 717	Hebra sentido de 25 mer		AGGAUGACUUUGAUUUCAAAGCAGC	490
STAT3- 720	Hebra sentido de 25 mer		AUGACUUUGAUUUCAACUAAGCAGC	491
STAT3- 721	Hebra sentido de 25 mer		UGACUUUGAUUUCAACUAUAGCAGC	492
STAT3- 722	Hebra sentido de		GACUUUGAUUUCAACUAUAAGCAGC	493

	25 mer			
STAT3-723	Hebra sentido de 25 mer		ACUUUGAUUUCAACUAUAAAAGCAGC	494
STAT3-724	Hebra sentido de 25 mer		CUUUGAUUUCAACUAUAAAAGCAGC	495
STAT3-768	Hebra sentido de 25 mer		AAGAUCUGAAUGGAAACAAAGCAGC	496
STAT3-771	Hebra sentido de 25 mer		AUCUGAAUGGAAACAACCAAGCAGC	497
STAT3-773	Hebra sentido de 25 mer		CUGAAUGGAAACAACCAGUAGCAGC	498
STAT3-1000	Hebra sentido de 25 mer		AGAAAACUGGAUAACGUCAAGCAGC	499
STAT3-1001	Hebra sentido de 25 mer		GAAAACUGGAUAACGUCAUAGCAGC	500
STAT3-1003	Hebra sentido de 25 mer		AAACUGGAUAACGUCAUUAAGCAGC	501
STAT3-1006	Hebra sentido de 25 mer		CUGGAUAACGUCAUUAGCAAGCAGC	502
STAT3-1008	Hebra sentido de 25 mer		GGAUAACGUCAUUAGCAGAAGCAGC	503
STAT3-1009	Hebra sentido de 25 mer		GAUAACGUCAUUAGCAGAAAGCAGC	504
STAT3-1010	Hebra sentido de 25 mer		AUAACGUCAUUAGCAGAAUAGCAGC	505
STAT3-1047	Hebra sentido de 25 mer		AACAAAUUAAGAAACUGGAAGCAGC	506
STAT3-1067	Hebra sentido de 25 mer		GAGUUGCAGCAAAAAGUUUAGCAGC	507
STAT3-1068	Hebra sentido de 25 mer		AGUUGCAGCAAAAAGUUUCAGCAGC	508

STAT3-1145	Hebra sentido de 25 mer		CUGUUUAGAAACUAAUGAAGCAGC	509
STAT3-1151	Hebra sentido de 25 mer		AGAAACUUAUGAAAAGUGAGCAGC	510
STAT3-1241	Hebra sentido de 25 mer		CAGUUCACUACUAAAGUCAAGCAGC	511
STAT3-1268	Hebra sentido de 25 mer		GUCAAAUUCCCUGAGUUGAAGCAGC	512
STAT3-1272	Hebra sentido de 25 mer		AAUUCCCUGAGUUGAAUUAAGCAGC	513
STAT3-1273	Hebra sentido de 25 mer		AUUCCCUGAGUUGAAUUAUAGCAGC	514
STAT3-1275	Hebra sentido de 25 mer		UCCCUGAGUUGAAUUAUCAAGCAGC	515
STAT3-1277	Hebra sentido de 25 mer		CCUGAGUUGAAUUAUCAGCAGCAGC	516
STAT3-1278	Hebra sentido de 25 mer		CUGAGUUGAAUUAUCAGCUAGCAGC	517
STAT3-1279	Hebra sentido de 25 mer		UGAGUUGAAUUAUCAGCUUAGCAGC	518
STAT3-1280	Hebra sentido de 25 mer		GAGUUGAAUUAUCAGCUUAAGCAGC	519
STAT3-1281	Hebra sentido de 25 mer		AGUUGAAUUAUCAGCUUAAAGCAGC	520
STAT3-1282	Hebra sentido de 25 mer		GUUGAAUUAUCAGCUUAAAAGCAGC	521
STAT3-1283	Hebra sentido de 25 mer		UUGAAUUAUCAGCUUAAAAAGCAGC	522
STAT3-1284	Hebra sentido de 25 mer		UGAAUUAUCAGCUUAAAAUAGCAGC	523
STAT3-	Hebra		AAUUAUCAGCUUAAAAUUAAGCAGC	524

1286	sentido de 25 mer			
STAT3- 1287	Hebra sentido de 25 mer		AUUAUCAGCUUAAAAUUAAGCAGC	525
STAT3- 1292	Hebra sentido de 25 mer		CAGCUUAAAAUUAAGUGUAGCAGC	526
STAT3- 1293	Hebra sentido de 25 mer		AGCUUAAAAUUAAGUGUGAGCAGC	527
STAT3- 1299	Hebra sentido de 25 mer		AAAUUAAGUGUGCAUUGAAGCAGC	528
STAT3- 1305	Hebra sentido de 25 mer		AAGUGUGCAUUGACAAAGAAGCAGC	529
STAT3- 1383	Hebra sentido de 25 mer		CAAAAGUGAUGAACAUGGAAGCAGC	530
STAT3- 1388	Hebra sentido de 25 mer		GUGAUGAACAUGGAAGAAUAGCAGC	531
STAT3- 1427	Hebra sentido de 25 mer		GCAGAAUUCAAACACUUGAAGCAGC	532
STAT3- 1485	Hebra sentido de 25 mer		AUUGUGAUGCUUCCCUGAUAGCAGC	533
STAT3- 1584	Hebra sentido de 25 mer		CCUUGCCAGUUGUGGUGAUAGCAGC	534
STAT3- 1586	Hebra sentido de 25 mer		UUGCCAGUUGUGGUGAUCUAGCAGC	535
STAT3- 1670	Hebra sentido de 25 mer		CCCAAGAAUGUAAACUUUUAGCAGC	536
STAT3- 1671	Hebra sentido de 25 mer		CCAAGAAUGUAAACUUUUUAGCAGC	537
STAT3- 1672	Hebra sentido de 25 mer		CAAGAAUGUAAACUUUUUUAGCAGC	538
STAT3- 1673	Hebra sentido de		AAGAAUGUAAACUUUUUUAAGCAGC	539

	25 mer			
STAT3-1674	Hebra sentido de 25 mer		AGAAUGUAAACUUUUUUACAGCAGC	540
STAT3-1676	Hebra sentido de 25 mer		AAUGUAAACUUUUUUACCAAGCAGC	541
STAT3-1813	Hebra sentido de 25 mer		ACCUGGUGUGAAUUAUUCAAGCAGC	542
STAT3-1815	Hebra sentido de 25 mer		CUGGUGUGAAUUAUUCAGGAGCAGC	543
STAT3-1817	Hebra sentido de 25 mer		GGUGUGAAUUAUUCAGGGUAGCAGC	544
STAT3-1819	Hebra sentido de 25 mer		UGUGAAUUAUUCAGGGUGUAGCAGC	545
STAT3-1904	Hebra sentido de 25 mer		CUGGACAAUAUCAUUGACCAGCAGC	546
STAT3-1906	Hebra sentido de 25 mer		GGACAAUAUCAUUGACCUUAGCAGC	547
STAT3-1907	Hebra sentido de 25 mer		GACAAUAUCAUUGACCUUGAGCAGC	548
STAT3-1908	Hebra sentido de 25 mer		ACAAUAUCAUUGACCUUGUAGCAGC	549
STAT3-1909	Hebra sentido de 25 mer		CAAUAUCAUUGACCUUGUGAGCAGC	550
STAT3-1910	Hebra sentido de 25 mer		AAUAUCAUUGACCUUGUGAAGCAGC	551
STAT3-1911	Hebra sentido de 25 mer		AUAUCAUUGACCUUGUGAAAGCAGC	552
STAT3-1912	Hebra sentido de 25 mer		UAUCAUUGACCUUGUGAAAAGCAGC	553
STAT3-1913	Hebra sentido de 25 mer		AUCAUUGACCUUGUGAAAAAGCAGC	554

STAT3-1914	Hebra sentido de 25 mer		UCAUUGACCUUGUGAAAAAAGCAGC	555
STAT3-1916	Hebra sentido de 25 mer		AUUGACCUUGUGAAAAAGUAGCAGC	556
STAT3-1917	Hebra sentido de 25 mer		UUGACCUUGUGAAAAAGUAAGCAGC	557
STAT3-1919	Hebra sentido de 25 mer		GACCUUGUGAAAAAGUACAAGCAGC	558
STAT3-1920	Hebra sentido de 25 mer		ACCUUGUGAAAAAGUACAUAGCAGC	559
STAT3-2024	Hebra sentido de 25 mer		ACCUUCCUGCUAAGAUUCAAGCAGC	560
STAT3-2135	Hebra sentido de 25 mer		AAGCAGCAGCUGAACAACAAGCAGC	561
STAT3-2136	Hebra sentido de 25 mer		AGCAGCAGCUGAACAACAUAGCAGC	562
STAT3-2138	Hebra sentido de 25 mer		CAGCAGCUGAACAACAUGUAGCAGC	563
STAT3-2139	Hebra sentido de 25 mer		AGCAGCUGAACAACAUGUCAGCAGC	564
STAT3-2143	Hebra sentido de 25 mer		GCUGAACAACAUGUCAUUUAGCAGC	565
STAT3-2144	Hebra sentido de 25 mer		CUGAACAACAUGUCAUUUGAGCAGC	566
STAT3-2145	Hebra sentido de 25 mer		UGAACAACAUGUCAUUUGCAGCAGC	567
STAT3-2146	Hebra sentido de 25 mer		GAACAACAUGUCAUUUGCUAGCAGC	568
STAT3-2147	Hebra sentido de 25 mer		AACAACAUGUCAUUUGCUGAGCAGC	569
STAT3-	Hebra		ACAACAUGUCAUUUGCUGAAGCAGC	570

2148	sentido de 25 mer			
STAT3- 2151	Hebra sentido de 25 mer		ACAUGUCAUUUGCUGAAAUAAGCAGC	571
STAT3- 2153	Hebra sentido de 25 mer		AUGUCAUUUGCUGAAAUCAAGCAGC	572
STAT3- 2154	Hebra sentido de 25 mer		UGUCAUUUGCUGAAAUCAUAGCAGC	573
STAT3- 2159	Hebra sentido de 25 mer		UUUGCUGAAAUCAUCAUGGAGCAGC	574
STAT3- 2322	Hebra sentido de 25 mer		CAUACCUGAAGACCAAGUUAGCAGC	575
STAT3- 2325	Hebra sentido de 25 mer		ACCUGAAGACCAAGUUUAUAGCAGC	576
STAT3- 2327	Hebra sentido de 25 mer		CUGAAGACCAAGUUUAUCUAGCAGC	577
STAT3- 2329	Hebra sentido de 25 mer		GAAGACCAAGUUUAUCUGUAGCAGC	578
STAT3- 2333	Hebra sentido de 25 mer		ACCAAGUUUAUCUGUGUGAAGCAGC	579
STAT3- 2335	Hebra sentido de 25 mer		CAAGUUUAUCUGUGUGACAAGCAGC	580
STAT3- 2404	Hebra sentido de 25 mer		AGAUUCAUUGAUGCAGUUUAGCAGC	581
STAT3- 2405	Hebra sentido de 25 mer		GAUUCAUUGAUGCAGUUUGAGCAGC	582
STAT3- 2407	Hebra sentido de 25 mer		UUCAUUGAUGCAGUUUGGAAGCAGC	583
STAT3- 2408	Hebra sentido de 25 mer		UCAUUGAUGCAGUUUGGAAAGCAGC	584
STAT3- 2411	Hebra sentido de		UUGAUGCAGUUUGGAAAUAAGCAGC	585

	25 mer			
STAT3-2412	Hebra sentido de 25 mer		UGAUGCAGUUUGGAAAUAAAGCAGC	586
STAT3-2413	Hebra sentido de 25 mer		GAUGCAGUUUGGAAAUAAUAGCAGC	587
STAT3-2416	Hebra sentido de 25 mer		GCAGUUUGGAAAUAAUGGUAGCAGC	588
STAT3-2418	Hebra sentido de 25 mer		AGUUUGGAAAUAAUGGUGAAGCAGC	589
STAT3-2422	Hebra sentido de 25 mer		UGGAAAUAAUGGUGAAGGUAGCAGC	590
STAT3-2427	Hebra sentido de 25 mer		AUAAUGGUGAAGGUGCUGAAGCAGC	591
STAT3-2612	Hebra sentido de 25 mer		CUGAAACUACUACUUUGUAGCAGC	592
STAT3-2615	Hebra sentido de 25 mer		AAACUACUACUUGUGGUAGCAGC	593
STAT3-2616	Hebra sentido de 25 mer		AACUACUACUUGUGGUUAGCAGC	594
STAT3-2617	Hebra sentido de 25 mer		ACUACUACUUGUGGUUCAGCAGC	595
STAT3-2622	Hebra sentido de 25 mer		UACUUGUGGUUCCAGAUAGCAGC	596
STAT3-2625	Hebra sentido de 25 mer		CUUUGUGGUUCCAGAUUUUAGCAGC	597
STAT3-2626	Hebra sentido de 25 mer		UUUGUGGUUCCAGAUUUUUAGCAGC	598
STAT3-2627	Hebra sentido de 25 mer		UUGUGGUUCCAGAUUUUUUAGCAGC	599
STAT3-2692	Hebra sentido de 25 mer		AAAUAGAGAAAUGAGUGAAAGCAGC	600

STAT3-2693	Hebra sentido de 25 mer		AAUAGAGAAAUGAGUGAAUAGCAGC	601
STAT3-2715	Hebra sentido de 25 mer		GGUGAUCUGCUUUUAUCUAAGCAGC	602
STAT3-2719	Hebra sentido de 25 mer		AUCUGCUUUUAUCUAAAUGAGCAGC	603
STAT3-2721	Hebra sentido de 25 mer		CUGCUUUUAUCUAAAUGCAAGCAGC	604
STAT3-2735	Hebra sentido de 25 mer		AUGCAAUAAGGAUGUGUUAGCAGC	605
STAT3-2741	Hebra sentido de 25 mer		AUAAGGAUGUGUUCUCUGAAGCAGC	606
STAT3-2801	Hebra sentido de 25 mer		GAAAAAGGAAAUGUCUUGUAGCAGC	607
STAT3-2803	Hebra sentido de 25 mer		AAAAGGAAAUGUCUUGUGUAGCAGC	608
STAT3-2804	Hebra sentido de 25 mer		AAAGGAAAUGUCUUGUGUUAGCAGC	609
STAT3-2806	Hebra sentido de 25 mer		AGGAAAUGUCUUGUGUUGUAGCAGC	610
STAT3-2807	Hebra sentido de 25 mer		GGAAAUGUCUUGUGUUGUUAGCAGC	611
STAT3-2808	Hebra sentido de 25 mer		GAAUGUCUUGUGUUGUUUAGCAGC	612
STAT3-2809	Hebra sentido de 25 mer		AAAUGUCUUGUGUUGUUUUAGCAGC	613
STAT3-2810	Hebra sentido de 25 mer		AAUGUCUUGUGUUGUUUUGAGCAGC	614
STAT3-2811	Hebra sentido de 25 mer		AUGUCUUGUGUUGUUUUGUAGCAGC	615
STAT3-	Hebra		UGUCUUGUGUUGUUUUGUUAGCAGC	616

2812	sentido de 25 mer			
STAT3- 2813	Hebra sentido de 25 mer		GUCUUGUGUUGUUUUGUUCAGCAGC	617
STAT3- 2846	Hebra sentido de 25 mer		CUCAGCAGCUUUUUGUUAUAGCAGC	618
STAT3- 2848	Hebra sentido de 25 mer		CAGCAGCUUUUUGUUAUUGAGCAGC	619
STAT3- 2849	Hebra sentido de 25 mer		AGCAGCUUUUUGUUAUUGUAGCAGC	620
STAT3- 2850	Hebra sentido de 25 mer		GCAGCUUUUUGUUAUUGUAGCAGC	621
STAT3- 2851	Hebra sentido de 25 mer		CAGCUUUUUGUUAUUGUAGCAGC	622
STAT3- 2852	Hebra sentido de 25 mer		AGCUUUUUGUUAUUGUAGCAGC	623
STAT3- 2853	Hebra sentido de 25 mer		GCUUUUUGUUAUUGUAGCAGC	624
STAT3- 2854	Hebra sentido de 25 mer		CUUUUUGUUAUUGUAGCAGC	625
STAT3- 2855	Hebra sentido de 25 mer		UUUUUGUUAUUGUAGCAGC	626
STAT3- 2856	Hebra sentido de 25 mer		UUUUGUUAUUGUAGCAGC	627
STAT3- 2857	Hebra sentido de 25 mer		UUUGUUAUUGUAGCAGC	628
STAT3- 2858	Hebra sentido de 25 mer		UUGUUAUUGUAGCAGC	629
STAT3- 2859	Hebra sentido de 25 mer		UGUUAUUGUAGCAGC	630
STAT3- 2860	Hebra sentido de		GUUAUUGUAGCAGC	631

	25 mer			
STAT3-2861	Hebra sentido de 25 mer		UUAUUGUUGUUGUUGUUCUAGCAGC	632
STAT3-2862	Hebra sentido de 25 mer		UAUUGUUGUUGUUGUUCUAGCAGC	633
STAT3-2863	Hebra sentido de 25 mer		AUUGUUGUUGUUGUUCUAAAGCAGC	634
STAT3-2865	Hebra sentido de 25 mer		UGUUGUUGUUGUUCUAGAAGCAGC	635
STAT3-2867	Hebra sentido de 25 mer		UUGUUGUUGUUCUAGACAAGCAGC	636
STAT3-2868	Hebra sentido de 25 mer		UGUUGUUGUUCUAGACAAAGCAGC	637
STAT3-2975	Hebra sentido de 25 mer		CUUUUUAACCUUGCUGACAAGCAGC	638
STAT3-2979	Hebra sentido de 25 mer		UUAACCUUGCUGACAUCCAAGCAGC	639
STAT3-2985	Hebra sentido de 25 mer		UUGCUGACAUCCAAAUAGAAGCAGC	640
STAT3-3025	Hebra sentido de 25 mer		AGGUUUCUUUUUAAAUUAAGCAGC	641
STAT3-3037	Hebra sentido de 25 mer		AAAUUAAGAAAUAAUAACAAGCAGC	642
STAT3-3038	Hebra sentido de 25 mer		AAUUAAGAAAUAAUAACAAAGCAGC	643
STAT3-3039	Hebra sentido de 25 mer		AUUAAGAAAUAAUAACAAUAGCAGC	644
STAT3-3041	Hebra sentido de 25 mer		UAAGAAAUAAUAACAAUUAAGCAGC	645
STAT3-3042	Hebra sentido de 25 mer		AAGAAAUAAUAACAAUUAAGCAGC	646

STAT3-3043	Hebra sentido de 25 mer		AGAAAUAAUAACAAUUAAGCAGC	647
STAT3-3225	Hebra sentido de 25 mer		ACUAAAAGUACAAAAAAUAGCAGC	648
STAT3-3226	Hebra sentido de 25 mer		CUAAAAGUACAAAAAAUUAAGCAGC	649
STAT3-3605	Hebra sentido de 25 mer		AGACUUAUUUCCUUUGUAAGCAGC	650
STAT3-3611	Hebra sentido de 25 mer		AUUUCCUUUGUAAUGUAUAGCAGC	651
STAT3-3906	Hebra sentido de 25 mer		AGUUACAGGUUGGACAUGAAGCAGC	652
STAT3-4311	Hebra sentido de 25 mer		UGUGGAAUUCUGUUUGUUAAGCAGC	653
STAT3-4314	Hebra sentido de 25 mer		GGAAUUCUGUUUGUUAUUAGCAGC	654
STAT3-4317	Hebra sentido de 25 mer		AUUCUGUUUGUUAUAUCAAAGCAGC	655
STAT3-4321	Hebra sentido de 25 mer		UGUUUGUUAUAUCAAUUAGCAGC	656
STAT3-4465	Hebra sentido de 25 mer		ACAUAUAAGCUUAACUGAAGCAGC	657
STAT3-4479	Hebra sentido de 25 mer		ACUGAUAAACAGAAUUAUUAGCAGC	658
STAT3-4480	Hebra sentido de 25 mer		CUGAUAAACAGAAUUAUUAGCAGC	659
STAT3-4831	Hebra sentido de 25 mer		UAGUGUAAAAUUUAUAUUAGCAGC	660
STAT3-4833	Hebra sentido de 25 mer		GUGUAAAAUUUAUAUUAGCAGC	661
STAT3-	Hebra		UAAAAUUUAUAUAUUGUAGCAGC	662

4836	sentido de 25 mer			
STAT3- 4837	Hebra sentido de 25 mer		AAAAAUUUUAUUAUUGUGAGCAGC	663
STAT3- 4909	Hebra sentido de 25 mer		UUUAACUUCCAGAAUAAAAGCAGC	664
STAT3- 370	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUUAUGAAACACCAAAGUG GG	665
STAT3- 372	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAGAUAUGAAACACCAAAG GG	666
STAT3- 424	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACAUUCGACUCUUGCAGG GG	667
STAT3- 425	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGAACAUUCGACUCUUGCAG GG	668
STAT3- 426	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAGAACAUAUCGACUCUUGCA GG	669
STAT3- 429	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAGAGAACAUAUCGACUCUU GG	670
STAT3- 430	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUAGAGAACAUAUCGACUCU GG	671
STAT3- 432	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGAUAGAGAACAUAUCGACU GG	672
STAT3- 433	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCUGAUAGAGAACAUAUCGAC GG	673
STAT3- 460	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAACUGCUUGAUUCUUCGU GG	674
STAT3- 461	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGAAACUGCUUGAUUCUUCG GG	675
STAT3- 462	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAGAAACUGCUUGAUUCUUC GG	676
STAT3- 492	Hebra antisentido		GCUGCUUCCAUUGGCUUCUCAAGAU GG	677

	de 27 mer			
STAT3-678	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUUUUCUGUUCUAGAUCU GG	678
STAT3-681	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUCAUUUUUCUGUUCUAGAU GG	679
STAT3-715	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGAAAUCAAGUCAUCCUGG GG	680
STAT3-716	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGAAAUCAAGUCAUCCUG GG	681
STAT3-717	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUGAAAUCAAGUCAUCCU GG	682
STAT3-720	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAGUUGAAAUCAAGUCAU GG	683
STAT3-721	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUAGUUGAAAUCAAGUCA GG	684
STAT3-722	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAUAGUUGAAAUCAAGUC GG	685
STAT3-723	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUAUAGUUGAAAUCAAGU GG	686
STAT3-724	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUUAUAGUUGAAAUCAAG GG	687
STAT3-768	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUGUUUCCAUCAGAUUU GG	688
STAT3-771	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGGUUGUUUCCAUCAGAU GG	689
STAT3-773	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACUGGUUGUUUCCAUCAG GG	690
STAT3-1000	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGACGUUAUCCAGUUUUUCU GG	691
STAT3-1001	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUGACGUUAUCCAGUUUUC GG	692

STAT3-1003	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAUGACGUUAUCCAGUUU GG	693
STAT3-1006	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGCUGCUAAUGACGUUAUCCAG GG	694
STAT3-1008	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCUGCUAAUGACGUUAUCC GG	695
STAT3-1009	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUCUGCUAAUGACGUUAUC GG	696
STAT3-1010	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUUCUGCUAAUGACGUUAU GG	697
STAT3-1047	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCCAGUUUCUAAAUUUGUU GG	698
STAT3-1067	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAACUUUUUGCUGCAACUC GG	699
STAT3-1068	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGAAACUUUUUGCUGCAACU GG	700
STAT3-1145	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCAUUAAGUUUCUAAACAG GG	701
STAT3-1151	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCACUUUUUCAUUAAGUUUCU GG	702
STAT3-1241	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGACUUUAGUAGUGAACUG GG	703
STAT3-1268	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCAACUCAGGGAAUUUGAC GG	704
STAT3-1272	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAUUCAACUCAGGGAAUU GG	705
STAT3-1273	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUAAUUCAACUCAGGGAAU GG	706
STAT3-1275	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGAUAAUUCAACUCAGGGGA GG	707
STAT3-	Hebra		GCUGCUGCUGAUAAUUCAACUCAGG	708

1277	antisentido de 27 mer		GG	
STAT3- 1278	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAGCUGAUAAUUCAACUCAG GG	709
STAT3- 1279	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAGCUGAUAAUUCAACUCA GG	710
STAT3- 1280	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAGCUGAUAAUUCAACUC GG	711
STAT3- 1281	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUAAGCUGAUAAUUCAACU GG	712
STAT3- 1282	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUUAAGCUGAUAAUUCAAC GG	713
STAT3- 1283	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUUUAAGCUGAUAAUUCAA GG	714
STAT3- 1284	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUUUUAAGCUGAUAAUUCA GG	715
STAT3- 1286	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAUUUUUAAGCUGAUAAUU GG	716
STAT3- 1287	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUAUUUUUAAGCUGAUAAU GG	717
STAT3- 1292	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACACUUUAAUUUUUAAGCUG GG	718
STAT3- 1293	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCACACUUUAAUUUUUAAGCU GG	719
STAT3- 1299	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCA AUGCACACUUUAAUUU GG	720
STAT3- 1305	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCUUUGUCA AUGCACACUU GG	721
STAT3- 1383	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCCAUGUUCAUCACUUUUG GG	722
STAT3- 1388	Hebra antisentido		GCUGCUAUUCUCCAUGUUCAUCAC GG	723

	de 27 mer			
STAT3-1427	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCAAGUGUUUGAAUUCUGC GG	724
STAT3-1485	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUCAGGGAAGCAUCACAAU GG	725
STAT3-1584	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUCACCACAACUGGCAAGG GG	726
STAT3-1586	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAGAUCACCACAACUGGCAA GG	727
STAT3-1670	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAAAGUUUACAUUCUUGGG GG	728
STAT3-1671	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAAAAGUUUACAUUCUUGG GG	729
STAT3-1672	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAAAAAGUUUACAUUCUUG GG	730
STAT3-1673	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAAAAAGUUUACAUUCUU GG	731
STAT3-1674	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGUAAAAAAGUUUACAUUCU GG	732
STAT3-1676	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGGUAAAAAAGUUUACAUU GG	733
STAT3-1813	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGAAUAAUUCACACCAGGU GG	734
STAT3-1815	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCCUGAAUAAUUCACACCAG GG	735
STAT3-1817	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACCCUGAAUAAUUCACACC GG	736
STAT3-1819	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACACCCUGAAUAAUUCACA GG	737
STAT3-1904	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGGUCAAUGAUAUUGUCCAG GG	738

STAT3-1906	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAGGUCAAUGAUAUUGUCC GG	739
STAT3-1907	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCAAGGUCAAUGAUAUUGUC GG	740
STAT3-1908	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAAGGUCAAUGAUAUUGU GG	741
STAT3-1909	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCACAAGGUCAAUGAUAUUG GG	742
STAT3-1910	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCACAAGGUCAAUGAUUU GG	743
STAT3-1911	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUCACAAGGUCAAUGAUU GG	744
STAT3-1912	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUUCACAAGGUCAAUGAU GG	745
STAT3-1913	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUUUCACAAGGUCAAUGAU GG	746
STAT3-1914	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUUUUCACAAGGUCAAUGA GG	747
STAT3-1916	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACUUUUUCACAAGGUCAAU GG	748
STAT3-1917	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUACUUUUUCACAAGGUCAA GG	749
STAT3-1919	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGUACUUUUUCACAAGGUC GG	750
STAT3-1920	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUGUACUUUUUCACAAGGU GG	751
STAT3-2024	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGAAUCUUAGCAGGAAGGU GG	752
STAT3-2135	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGUUGUUCAGCUGCUGCUU GG	753
STAT3-	Hebra		GCUGCUAUGUUGUUCAGCUGCUGCU	754

2136	antisentido de 27 mer		GG	
STAT3- 2138	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAUGUUGUUCAGCUGCUG GG	755
STAT3- 2139	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGACAUGUUGUUCAGCUGCU GG	756
STAT3- 2143	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAAUGACAUGUUGUUCAGC GG	757
STAT3- 2144	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCAAAUGACAUGUUGUUCAG GG	758
STAT3- 2145	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGCAAAUGACAUGUUGUUCA GG	759
STAT3- 2146	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAGCAAAUGACAUGUUGUUC GG	760
STAT3- 2147	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCAGCAAAUGACAUGUUGUU GG	761
STAT3- 2148	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCAGCAAAUGACAUGUUGU GG	762
STAT3- 2151	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUUUCAGCAAAUGACAUGU GG	763
STAT3- 2153	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGAUUUCAGCAAAUGACAU GG	764
STAT3- 2154	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUGAUUUCAGCAAAUGACA GG	765
STAT3- 2159	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCCAUGAUGAUUUCAGCAAA GG	766
STAT3- 2322	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACUUGGUCUUCAGGUAUG GG	767
STAT3- 2325	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUAAACUUGGUCUUCAGGU GG	768
STAT3- 2327	Hebra antisentido		GCUGCUAGAUAACUUGGUCUUCAG GG	769

	de 27 mer			
STAT3-2329	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAGAUAAACUUGGUCUUC GG	770
STAT3-2333	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCACACAGAUAAACUUGGU GG	771
STAT3-2335	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGUCACACAGAUAAACUUG GG	772
STAT3-2404	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAACUGCAUCAAAUGAAUCU GG	773
STAT3-2405	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCAAACUGCAUCAAAUGAAUC GG	774
STAT3-2407	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCCAAACUGCAUCAAAUGAA GG	775
STAT3-2408	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCCAAACUGCAUCAAAUGA GG	776
STAT3-2411	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAUUUCCAAACUGCAUCA GG	777
STAT3-2412	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUAUUUCCAAACUGCAUCA GG	778
STAT3-2413	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUUAUUUCCAAACUGCAUC GG	779
STAT3-2416	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACCAUUAUUUCCAAACUGC GG	780
STAT3-2418	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCACCAUUAUUUCCAAACU GG	781
STAT3-2422	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACCUUCACCAUUAUUUCCA GG	782
STAT3-2427	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCAGCACCUUCACCAUUAU GG	783
STAT3-2612	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAAAGUUAGUAGUUUCAG GG	784

STAT3-2615	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACCACAAAGUUAGUAGUU GG	785
STAT3-2616	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACCACAAAGUUAGUAGUU GG	786
STAT3-2617	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGAACCACAAAGUUAGUAGU GG	787
STAT3-2622	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUCUGGAACCACAAAGUUA GG	788
STAT3-2625	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAAAUCUGGAACCACAAAG GG	789
STAT3-2626	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAAAAUCUGGAACCACAAA GG	790
STAT3-2627	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAAAAAUCUGGAACCACAA GG	791
STAT3-2692	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUCACUCAUUUCUCUAUUU GG	792
STAT3-2693	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUUCACUCAUUUCUCUAUU GG	793
STAT3-2715	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAGAUAAAAGCAGAUCC GG	794
STAT3-2719	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCAUUUAGAUAAAAGCAGAU GG	795
STAT3-2721	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGCAUUUAGAUAAAAGCAG GG	796
STAT3-2735	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACACAUCCUUAUUUGCAU GG	797
STAT3-2741	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCAGAGAACACAUCCUUAU GG	798
STAT3-2801	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAAGACAUUUCCUUUUUC GG	799
STAT3-	Hebra		GCUGCUACACAAGACAUUUCCUUUU	800

2803	antisentido de 27 mer		GG	
STAT3- 2804	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACACAAGACAUUUCUU GG	801
STAT3- 2806	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAACACAAGACAUUUCU GG	802
STAT3- 2807	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACAACACAAGACAUUUC GG	803
STAT3- 2808	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAACAACACAAGACAUUC GG	804
STAT3- 2809	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAAACAACACAAGACAUU GG	805
STAT3- 2810	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCAAAACAACACAAGACAU GG	806
STAT3- 2811	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAAAACAACACAAGACAU GG	807
STAT3- 2812	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACAAAACAACACAAGACA GG	808
STAT3- 2813	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGAACAACAACAAGAC GG	809
STAT3- 2846	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUAACAAAAAGCUGCUGAG GG	810
STAT3- 2848	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCAAUAACAAAAAGCUGCUG GG	811
STAT3- 2849	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAAUAACAAAAAGCUGCU GG	812
STAT3- 2850	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACAAUAACAAAAAGCUGC GG	813
STAT3- 2851	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAACAAUAACAAAAAGCUG GG	814
STAT3- 2852	Hebra antisentido		GCUGCUACAACAAUAACAAAAAGCU GG	815

	de 27 mer			
STAT3-2853	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACAACAAUAACAAAAAGC GG	816
STAT3-2854	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCAACAACAAUAACAAAAAG GG	817
STAT3-2855	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAACAACAAUAACAAAAA GG	818
STAT3-2856	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACAACAACAAUAACAAAA GG	819
STAT3-2857	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCAACAACAACAAUAACAAA GG	820
STAT3-2858	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAACAACAACAAUAACAA GG	821
STAT3-2859	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAACAACAACAACAAUAACA GG	822
STAT3-2860	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUGAACAACAACAACAAUAAC GG	823
STAT3-2861	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAGAACAACAACAACAAUAA GG	824
STAT3-2862	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAGAACAACAACAACAAUA GG	825
STAT3-2863	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAGAACAACAACAACAAU GG	826
STAT3-2865	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCUAAGAACAACAACAACA GG	827
STAT3-2867	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGUCUAAGAACAACAACAA GG	828
STAT3-2868	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUGUCUAAGAACAACAACA GG	829
STAT3-2975	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGUCAGCAAGGUUAAAAAG GG	830

STAT3-2979	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGGAUGUCAGCAAGGUUAA GG	831
STAT3-2985	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCUAUUUGGAUGUCAGCAA GG	832
STAT3-3025	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUAAUUUAAAAAGAAACCU GG	833
STAT3-3037	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUGUUAUUUUUCUUAUUU GG	834
STAT3-3038	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUGUUAUUUUUCUUAUU GG	835
STAT3-3039	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUUGUUAUUUUUCUUAU GG	836
STAT3-3041	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAUUGUUAUUUUUCUUA GG	837
STAT3-3042	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAUUGUUAUUUUUCUU GG	838
STAT3-3043	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUUAAUUGUUAUUUUUCU GG	839
STAT3-3225	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAUUUUUUGUACUUUUAGU GG	840
STAT3-3226	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAUUUUUUGUACUUUUAG GG	841
STAT3-3605	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUACAAAGGAAAAUAAGUCU GG	842
STAT3-3611	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUACAUUACAAAGGAAAAU GG	843
STAT3-3906	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCAUGUCCAACCUGUAACU GG	844
STAT3-4311	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAACAAACAGAAUCCACA GG	845
STAT3-	Hebra		GCUGCUAUUUAACAAACAGAAUCC	846

4314	antisentido de 27 mer		GG	
STAT3-4317	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUGAUUUUACAAACAGAAU GG	847
STAT3-4321	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAUUUGAUUUUACAAACA GG	848
STAT3-4465	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUCAGUUAAGCUUAUUAUGU GG	849
STAT3-4479	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAAUAUUCUGUUUAUCAGU GG	850
STAT3-4480	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUAAAUAUUCUGUUUAUCAG GG	851
STAT3-4831	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAAUAUAAAUUUUUACACUA GG	852
STAT3-4833	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUAUAUAUAAAUUUUUACAC GG	853
STAT3-4836	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUACAAUAAUAUAAAUUUUUA GG	854
STAT3-4837	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUCACAAUAAUAUAAAUUUUU GG	855
STAT3-4909	Hebra antisentido de 27 mer		GCUGCUUUUAUUUCUGGAAGUUAAG GG	856
STAT3-715	36 mer sin modificar		CCAGGAUGACUUUGAUUUCAGCAGC CGAAAGGCUGC	857
STAT3-716	36 mer sin modificar		CAGGAUGACUUUGAUUUCAAGCAGC CGAAAGGCUGC	858
STAT3-717	36 mer sin modificar		AGGAUGACUUUGAUUUCAAGCAGC CGAAAGGCUGC	859
STAT3-720	36 mer sin modificar		AUGACUUUGAUUUCAACUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	860
STAT3-372	36 mer sin modificar		CUUUGGUGUUUCAUAAUCUAGCAGC CGAAAGGCUGC	861

STAT3-721	36 mer sin modificar		UGACUUUGAUUUCAACUAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	862
STAT3-722	36 mer sin modificar		GACUUUGAUUUCAACUAUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	863
STAT3-768	36 mer sin modificar		AAGAUCUGAAUGGAAACAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	864
STAT3-1001	36 mer sin modificar		GAAAACUGGAUAACGUCAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	865
STAT3-1006	36 mer sin modificar		CUGGAUAACGUCAUUAGCAAGCAGC CGAAAGGCUGC	866
STAT3-1145	36 mer sin modificar		CUGUUUAGAAACUUAUAUGAAGCAGC CGAAAGGCUGC	867
STAT3-1151	36 mer sin modificar		AGAAACUUAUAUGAAAAGUGAGCAGC CGAAAGGCUGC	868
STAT3-1268	36 mer sin modificar		GUCAAAUUCCCUGAGUUGAAGCAGC CGAAAGGCUGC	869
STAT3-1273	36 mer sin modificar		AUUCCCUGAGUUGAAUUAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	870
STAT3-1279	36 mer sin modificar		UGAGUUGAAUUAUCAGCUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	871
STAT3-1280	36 mer sin modificar		GAGUUGAAUUAUCAGCUUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	872
STAT3-1281	36 mer sin modificar		GAGUUGAAUUAUCAGCUUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	873
STAT3-1284	36 mer sin modificar		UGAAUUAUCAGCUUAAAAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	874
STAT3-1286	36 mer sin modificar		AAUUAUCAGCUUAAAAUUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	875
STAT3-1287	36 mer sin modificar		AUUAUCAGCUUAAAAUUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	876

STAT3-1292	36 mer sin modificar		CAGCUUAAAAUUAAGUGUAGCAGC CGAAAGGCUGC	877
STAT3-1293	36 mer sin modificar		AGCUUAAAAUUAAGUGUGAGCAGC CGAAAGGCUGC	878
STAT3-1819	36 mer sin modificar		UGUGAAUUAUUCAGGGUGUAGCAGC CGAAAGGCUGC	879
STAT3-1908	36 mer sin modificar		ACAAUAUCAUUGACCUUGUAGCAGC CGAAAGGCUGC	880
STAT3-1910	36 mer sin modificar		AAUAUCAUUGACCUUGUGAAGCAGC CGAAAGGCUGC	881
STAT3-1913	36 mer sin modificar		AUCAUUGACCUUGUGAAAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	882
STAT3-2154	36 mer sin modificar		UGUCAUUUGCUGAAAUCAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	883
STAT3-2327	36 mer sin modificar		CUGAAGACCAAGUUUAUCUAGCAGC CGAAAGGCUGC	884
STAT3-2335	36 mer sin modificar		CAAGUUUAUCUGUGUGACAAGCAGC CGAAAGGCUGC	885
STAT3-2418	36 mer sin modificar		AGUUUGGAAAUAAUGGUGAAGCAGC CGAAAGGCUGC	886
STAT3-2692	36 mer sin modificar		AAAUAGAGAAAUGAGUGAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	887
STAT3-2693	36 mer sin modificar		AAUAGAGAAAUGAGUGAAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	888
STAT3-2627	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUGUGGUUCCAGAUUUUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	889
STAT3-2626	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUUGUGGUUCCAGAUUUUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	890
STAT3-2407	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUCAUUGAUGCAGUUUGGAAGCAGC CGAAAGGCUGC	891
STAT3-	36 mer sin	Hs-Mf-	UGAUGCAGUUUGGAAAUAAAGCAGC	892

2412	modificar	Mm	CGAAAGGCUGC	
STAT3-2151	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	ACAUGUCAUUUGCUGAAAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	893
STAT3-2625	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	CUUUGUGGUUCCAGAUUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	894
STAT3-4836	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAAAAAUUUAUUAUUAUUGUAGCAGC CGAAAGGCUGC	895
STAT3-2408	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UCAUUGAUGCAGUUUGGAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	896
STAT3-2159	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUUGCUGAAAUCAUCAUGGAGCAGC CGAAAGGCUGC	897
STAT3-2146	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	GAACAACAUGUCAUUUGCUGAGCAGC CGAAAGGCUGC	898
STAT3-2148	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	ACAACAUGUCAUUUGCUGAAGCAGC CGAAAGGCUGC	899
STAT3-2147	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	AACAACAUGUCAUUUGCUGAGCAGC CGAAAGGCUGC	900
STAT3-0461	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	CGAAGAAUCAAGCAGUUUCAGCAGC CGAAAGGCUGC	901
STAT3-1584	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	CCUUGCCAGUUGUGGUGAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	902
STAT3-1047	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	AACAAAUUAAGAAACUGGAAGCAGC CGAAAGGCUGC	903
STAT3-0773	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	CUGAAUGGAAACAACCAGUAGCAGC CGAAAGGCUGC	904
STAT3-0492	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	AUCUUGAGAAGCCAAUGGAAGCAGC CGAAAGGCUGC	905
STAT3-0462	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	GAAGAAUCAAGCAGUUUCUAGCAGC CGAAAGGCUGC	906
STAT3-1586	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUGCCAGUUGUGGUGAUCUAGCAGC CGAAAGGCUGC	907

STAT3-0771	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	AUCUGAAUGGAAACAACCAAGCAGC CGAAAGGCUGC	908
STAT3-0681	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	AUCUAGAACAGAAAAUGAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	909
STAT3-0678	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	AGGAUCUAGAACAGAAAAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	910
STAT3-4837	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	AAAAAUUUUAUUUAUUGUGAGCAGC CGAAAGGCUGC	911
STAT3-4833	36 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	GUGUAAAAAUUUUAUUUAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	912
STAT3-1068	36 mer sin modificar	Hs	AGUUGCAGCAAAAAGUUUCAGCAGC CGAAAGGCUGC	913
STAT3-1673	36 mer sin modificar	Hs	AAGAAUGUAAACUUUUUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	914
STAT3-0426	36 mer sin modificar	Hs	UGCAAGAGUCGAAUGUUCUAGCAGC CGAAAGGCUGC	915
STAT3-2404	36 mer sin modificar	Hs	AGAUUCAUUGAUGCAGUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	916
STAT3-1067	36 mer sin modificar	Hs	GAGUUGCAGCAAAAAGUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	917
STAT3-0433	36 mer sin modificar	Hs	GUCGAAUGUUCUCUAUCAGAGCAGC CGAAAGGCUGC	918
STAT3-1670	36 mer sin modificar	Hs	CCCAAGAAUGUAAACUUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	919
STAT3-1388	36 mer sin modificar	Hs	GUGAUGAACAUGGAAGAAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	920
STAT3-0429	36 mer sin modificar	Hs	AAGAGUCGAAUGUUCUCUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	921
STAT3-2405	36 mer sin modificar	Hs	GAUUCAUUGAUGCAGUUUGAGCAGC CGAAAGGCUGC	922

STAT3-0430	36 mer sin modificar	Hs	AGAGUCGAAUGUUCUCUAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	923
STAT3-0432	36 mer sin modificar	Hs	AGUCGAAUGUUCUCUAUCAAGCAGC CGAAAGGCUGC	924
STAT3-1815	36 mer sin modificar	Hs	CUGGUGUGAAUUAUUCAGGAGCAGC CGAAAGGCUGC	925
STAT3-0424	36 mer sin modificar	Hs	CCUGCAAGAGUCGAAUGUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	926
STAT3-2024	36 mer sin modificar	Hs	ACCUUCCUGCUAAGAUAUCAAGCAGC CGAAAGGCUGC	927
STAT3-1813	36 mer sin modificar	Hs	ACCUGGUGUGAAUUAUUCAAGCAGC CGAAAGGCUGC	928
STAT3-1674	36 mer sin modificar	Hs	AGAAUGUAAACUUUUUUACAGCAGC CGAAAGGCUGC	929
STAT3-1241	36 mer sin modificar	Hs	CAGUUCACUACUAAAGUCAAGCAGC CGAAGGCUGC	930
STAT3-1672	36 mer sin modificar	Hs	CAAGAAUGUAAACUUUUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	931
STAT3-0425	36 mer sin modificar	Hs	CUGCAAGAGUCGAAUGUUCAGCAGC CGAAAGGCUGC	932
STAT3-1817	36 mer sin modificar	Hs	GGUGUGAAUUAUUCAGGGUAGCAGC CGAAAGGCUGC	933
STAT3-1671	36 mer sin modificar	Hs	CCAAGAAUGUAAACUUUUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	934
STAT3-2136	36 mer sin modificar	Hs-Mm	AGCAGCAGCUGAACAACAUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	935
STAT3-2143	36 mer sin modificar	Hs-Mm	GCUGAACAACAUGUCAUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	936
STAT3-2144	36 mer sin modificar	Hs-Mm	CUGAACAACAUGUCAUUUGAGCAGC CGAAAGGCUGC	937
STAT3-	36 mer sin	Hs-Mm	CAGCAGCUGAACAACAUGUAGCAGC	938

2138	modificar		CGAAAGGCUGC	
STAT3-4909	36 mer sin modificar	Hs-Mm	UUUAACUUCCAGAAAUAAAAGCAGC CGAAAGGCUGC	939
STAT3-2139	36 mer sin modificar	Hs-Mm	AGCAGCUGAACAACAUGUCAGCAGC CGAAAGGCUGC	940
STAT3-2411	36 mer sin modificar	Hs-Mm	UUGAUGCAGUUUGGAAAUAAGCAGC CGAAAGGCUGC	941
STAT3-2145	36 mer sin modificar	Hs-Mm	UGAACAACAUGUCAUUUGCAGCAGC CGAAAGGCUGC	942
STAT3-4831	36 mer sin modificar	Hs-Mm	UAGUGUAAAAAUUUUAUUUAGCAGC CGAAAGGCUGC	943
STAT3-2622	36 mer sin modificar	Hs-Mm	UAACUUUGUGGUUCCAGAUAGCAGC CGAAAGGCUGC	944
STAT3-2135	36 mer sin modificar	Hs-Mm	AAGCAGCAGCUGAACAACAAGCAGC CGAAAGGCUGC	945
STAT3-1383	36 mer sin modificar	Hs-Mm	CAAAAGUGAUGAACAUGGAAGCAGC CGAAAGGCUGC	946
STAT3-715	22 mer sin modificar		UGAAAUCAAAGUCAUCCUGGGG	947
STAT3-716	22 mer sin modificar		UUGAAAUCAAAGUCAUCCUGGG	948
STAT3-717	22 mer sin modificar		UUUGAAAUCAAAGUCAUCCUGG	949
STAT3-720	22 mer sin modificar		UUAGUUGAAAUCAAAGUCAUGG	950
STAT3-372	22 mer sin modificar		UAGAUUAUGAAACACCAAAGGG	951
STAT3-721	22 mer sin modificar		UAUAGUUGAAAUCAAAGUCAGG	952
STAT3-722	22 mer sin modificar		UUAUAGUUGAAAUCAAAGUCGG	953
STAT3-768	22 mer sin modificar		UUUGUUUCCAUUCAGAUCUUGG	954
STAT3-1001	22 mer sin modificar		UAUGACGUUAUCCAGUUUUCGG	955
STAT3-	22 mer sin		UUGCUGAAUGACGUUAUCCAGGG	956

1006	modificar			
STAT3-1145	22 mer sin modificar		UUCAUUAAGUUUCUAAACAGGG	957
STAT3-1151	22 mer sin modificar		UCACUUUUCAUUAAGUUUCUGG	958
STAT3-1268	22 mer sin modificar		UUCAACUCAGGGAAUUUGACGG	959
STAT3-1273	22 mer sin modificar		UAUAAUUCAACUCAGGGAAUGG	960
STAT3-1279	22 mer sin modificar		UAAGCUGAUAAUUCAACUCAGG	961
STAT3-1280	22 mer sin modificar		UUAAGCUGAUAAUUCAACUCGG	962
STAT3-1281	22 mer sin modificar		UUUAAGCUGAUAAUUCAACUGG	963
STAT3-1284	22 mer sin modificar		UAUUUUUAAAGCUGAUAAUUCAGG	964
STAT3-1286	22 mer sin modificar		UUAAUUUUUAAAGCUGAUAAUUGG	965
STAT3-1287	22 mer sin modificar		UUUAAUUUUUAAAGCUGAUAAUGG	966
STAT3-1292	22 mer sin modificar		UACACUUUAAUUUUUAAAGCUGGG	967
STAT3-1293	22 mer sin modificar		UCACACUUUAAUUUUUAAAGCUGG	968
STAT3-1819	22 mer sin modificar		UACACCCUGAAUAAUUCACAGG	969
STAT3-1908	22 mer sin modificar		UACAAGGUCAAUGAUAUUGUGG	970
STAT3-1910	22 mer sin modificar		UUCACAAGGUCAAUGAUAUUGG	971
STAT3-1913	22 mer sin modificar		UUUUUCACAAGGUCAAUGAUGG	972
STAT3-2154	22 mer sin modificar		UAUGAUUUCAGCAAUUGACAGG	973
STAT3-2327	22 mer sin modificar		UAGAUAAACUUGGUCUUCAGGG	974
STAT3-2335	22 mer sin modificar		UUGUCACACAGAUAAACUUGGG	975
STAT3-	22 mer sin		UUCACCAUUAUUUCCAAACUGG	976

2418	modificar			
STAT3-2692	22 mer sin modificar		UUUCACUCAUUUCUCUAUUUGG	977
STAT3-2693	22 mer sin modificar		UAUUCACUCAUUUCUCUAUUUGG	978
STAT3-2627	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAAAAAAUCUGGAACCACAAGG	979
STAT3-2626	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAAAAAUCUGGAACCACAAAGG	980
STAT3-2407	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUCCAAACUGCAUCAUGAAGG	981
STAT3-2412	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUUAUUUCCAAACUGCAUCAGG	982
STAT3-2151	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAUUUCAGCAAUGACAUGUGG	983
STAT3-2625	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAAAAUCUGGAACCACAAAGGG	984
STAT3-4836	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UACAAUAAUAUAAAUUUUUAGG	985
STAT3-2408	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUUCCAAACUGCAUCAUGAGG	986
STAT3-2159	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UCCAUGAUGAUUUCAGCAAAGG	987
STAT3-2146	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAGCAA AUGACAUGUUGUUCGG	988
STAT3-2148	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUCAGCAA AUGACAUGUUGUGG	989
STAT3-2147	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UCAGCAA AUGACAUGUUGUUGG	990
STAT3-0461	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UGAAACUGCUUGAUUCUUCGGG	991
STAT3-1584	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAUCACCACAACUGGCAAGGGG	992
STAT3-1047	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUCCAGUUUCUAAUUUGUUGG	993
STAT3-0773	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UACUGGUUGUUUCCAUCAGGG	994
STAT3-0492	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUCCAUGGCUUCUCAAGAUGG	995
STAT3-0462	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAGAAACUGCUUGAUUCUUCGG	996
STAT3-1586	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAGAUCACCACAACUGGCAAGG	997
STAT3-0771	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UUGGUUGUUUCCAUCAGAUGG	998
STAT3-	22 mer sin	Hs-Mf-	UUUCAUUUUCUGUUCUAGAUGG	999

0681	modificar	Mm		
STAT3-0678	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAUUUUCUGUUCUAGAUCUGG	1000
STAT3-4837	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UCACAAUAAUAUAAAUUUUUGG	1001
STAT3-4833	22 mer sin modificar	Hs-Mf-Mm	UAUAAUAUAAAUUUUUACACGG	1002
STAT3-1068	22 mer sin modificar	Hs	UGAAACUUUUUUGCUGCAACUGG	1003
STAT3-1673	22 mer sin modificar	Hs	UUAAAAAAGUUUACAUUCUUGG	1004
STAT3-0426	22 mer sin modificar	Hs	UAGAACAUUCGACUCUUGCAGG	1005
STAT3-2404	22 mer sin modificar	Hs	UAAACUGCAUCA AUGAAUCUGG	1006
STAT3-1067	22 mer sin modificar	Hs	UAAACUUUUUGCUGCAACUCGG	1007
STAT3-0433	22 mer sin modificar	Hs	UCUGAUAGAGAACA UUCGACGG	1008
STAT3-1670	22 mer sin modificar	Hs	UAAAAGUUUACAUUCUUGGGGG	1009
STAT3-1388	22 mer sin modificar	Hs	UAUUCUCCAUGUUCAUCACGG	1010
STAT3-0429	22 mer sin modificar	Hs	UUAGAGAACA UUCGACUCUUGG	1011
STAT3-2405	22 mer sin modificar	Hs	UCAAACUGCAUCA AUGAAUCGG	1012
STAT3-0430	22 mer sin modificar	Hs	UAUAGAGAACA UUCGACUCUGG	1013
STAT3-0432	22 mer sin modificar	Hs	UUGAUAGAGAACA UUCGACUGG	1014
STAT3-1815	22 mer sin modificar	Hs	UCCUGAAUA AUUCACACCAGGG	1015
STAT3-0424	22 mer sin modificar	Hs	UAACA UUCGACUCUUGCAGGGG	1016
STAT3-2024	22 mer sin modificar	Hs	UUGAAUCUAGCAGGAAGGUGG	1017
STAT3-1813	22 mer sin modificar	Hs	UUGAAUA AUUCACACCAGGUGG	1018
STAT3-1674	22 mer sin modificar	Hs	UGUAAAAAAGUUUACA UUCUGG	1019
STAT3-1241	22 mer sin modificar	Hs	UUGACUUUAGUAGUGAACUGGG	1020
STAT3-1672	22 mer sin modificar	Hs	UAAAAAAGUUUACA UUCUUGGG	1021
STAT3-	22 mer sin	Hs	UGAACAUUCGACUCUUGCAGGG	1022

0425	modificar			
STAT3-1817	22 mer sin modificar	Hs	UACCCUGAAUAAUUCACACCGG	1023
STAT3-1671	22 mer sin modificar	Hs	UAAAAAGUUUACAUUCUUGGGG	1024
STAT3-2136	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UAUGUUGUUCAGCUGCUGCUGG	1025
STAT3-2143	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UAAAUGACAUGUUGUUCAGCGG	1026
STAT3-2144	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UCAAUGACAUGUUGUUCAGGG	1027
STAT3-2138	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UACAUGUUGUUCAGCUGCUGGG	1028
STAT3-4909	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UUUUAUUUCUGGAAGUUAAGG	1029
STAT3-2139	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UGACAUGUUGUUCAGCUGCUGG	1030
STAT3-2411	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UUAUUUCCAAACUGCAUCAAGG	1031
STAT3-2145	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UGCAAUGACAUGUUGUUCAGG	1032
STAT3-4831	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UAAUAUAAAUUUUACACUAGG	1033
STAT3-2622	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UAUCUGGAACCACAAAGUUAGG	1034
STAT3-2135	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UUGUUGUUCAGCUGCUGCUUGG	1035
STAT3-1383	22 mer sin modificar	Hs-Mm	UUCCAUGUUCAUCACUUUUGGG	1036
STAT3-715	36 mer modificado		[mCs][mC][mA][mG][mG][mA][mU][fG][fA][fC][fU][mU][mU][mG][mA][mU][mU][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1037
STAT3-716	36 mer modificado		[mCs][mA][mG][mG][mA][mU][mG][fA][fC][fU][fU][mU][mG][mA][mU][mU][mU][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1038
STAT3-717	36 mer modificado		[mAs][mG][mG][mA][mU][mG][mA][fC][fU][fU][fU][mG][mA][mU][mU][mU][mC][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][m	1039

			C][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-720	36 mer modificado		[mAs][mU][mG][mA][mC][mU][mU][fU][fG][fA][fU][mU][mU][mC][mA][mA][mC][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1040
STAT3-372	36 mer modificado		[mCs][mU][mU][mU][mG][mG][mU][fG][fU][fU][fU][mC][mA][mU][mA][mA][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1041
STAT3-721	36 mer modificado		[mUs][mG][mA][mC][mU][mU][mU][fG][fA][fU][fU][mU][mC][mA][mA][mC][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1042
STAT3-722	36 mer modificado		[mGs][mA][mC][mU][mU][mU][mG][fA][fU][fU][fU][mC][mA][mA][mC][mU][mA][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1043
STAT3-768	36 mer modificado		[mAs][mA][mG][mA][mU][mC][mU][fG][fA][fA][fU][mG][mG][mA][mA][mA][mC][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1044
STAT3-1001	36 mer modificado		[mGs][mA][mA][mA][mA][mC][mU][fG][fG][fA][fU][mA][mA][mC][mG][mU][mC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1045

STAT3-1006	36 mer modificado		[mCs][mU][mG][mG][mA][mU][mA][fA][fC][fG][fU][mC][mA][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1046
STAT3-1145	36 mer modificado		[mCs][mU][mG][mU][mU][mU][mA][fG][fA][fA][fA][mC][mU][mU][mA][mA][mU][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1047
STAT3-1151	36 mer modificado		[mAs][mG][mA][mA][mA][mC][mU][fU][fA][fA][fU][mG][mA][mA][mA][mA][mG][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1048
STAT3-1268	36 mer modificado		[mGs][mU][mC][mA][mA][mA][mU][fU][fC][fC][fC][mU][mG][mA][mG][mU][mU][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1049
STAT3-1273	36 mer modificado		[mAs][mU][mU][mC][mC][mC][mU][fG][fA][fG][fU][mU][mG][mA][mA][mU][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1050
STAT3-1279	36 mer modificado		[mUs][mG][mA][mG][mU][mU][mG][fA][fA][fU][fU][mA][mU][mC][mA][mG][mC][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1051
STAT3-1280	36 mer modificado		[mGs][mA][mG][mU][mU][mG][mA][fA][fU][fU][fA][mU][mC][mA][mG][mC][mU][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-	1052

			GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-1281	36 mer modificado		[mAs][mG][mU][mU][mG][mA][mA][fU][fU][fA][fU][mC][mA][mG][mC][mU][mU][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1053
STAT3-1284	36 mer modificado		[mUs][mG][mA][mA][mU][mU][mA][fU][fC][fA][fG][mC][mU][mU][mA][mA][mA][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1054
STAT3-1286	36 mer modificado		[mAs][mA][mU][mU][mA][mU][mC][fA][fG][fC][fU][mU][mA][mA][mA][mA][mU][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1055
STAT3-1287	36 mer modificado		[mAs][mU][mU][mA][mU][mC][mA][fG][fC][fU][fU][mA][mA][mA][mA][mU][mU][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1056
STAT3-1292	36 mer modificado		[mCs][mA][mG][mC][mU][mU][mA][fA][fA][fA][fU][mU][mA][mA][mA][mG][mU][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1057
STAT3-1293	36 mer modificado		[mAs][mG][mC][mU][mU][mA][mA][fA][fA][fU][fU][mA][mA][mA][mG][mU][mG][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1058
STAT3-	36 mer		[mUs][mG][mU][mG][mA][mA][mU][fU][f	1059

1819	modificado		A][fU][fU][mC][mA][mG][mG][mG][mU][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-1908	36 mer modificado		[mAs][mC][mA][mA][mU][mA][mU][fC][fA][fU][fU][mG][mA][mC][mC][mU][mU][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1060
STAT3-1910	36 mer modificado		[mAs][mA][mU][mA][mU][mC][mA][fU][fU][fG][fA][mC][mC][mU][mU][mG][mU][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1061
STAT3-1913	36 mer modificado		[mAs][mU][mC][mA][mU][mU][mG][fA][fC][fC][fU][mU][mG][mU][mG][mA][mA][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1062
STAT3-2154	36 mer modificado		[mUs][mG][mU][mC][mA][mU][mU][fU][fG][fC][fU][mG][mA][mA][mA][mU][mC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1063
STAT3-2327	36 mer modificado		[mCs][mU][mG][mA][mA][mG][mA][fC][fC][fA][fA][mG][mU][mU][mU][mA][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1064
STAT3-2335	36 mer modificado		[mCs][mA][mA][mG][mU][mU][mU][fA][fU][fC][fU][mG][mU][mG][mU][mG][mA][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1065

			GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-2418	36 mer modificado		[mAs][mG][mU][mU][mU][mG][mG][fA][fA][fA][fU][mA][mA][mU][mG][mG][mU][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1066
STAT3-2692	36 mer modificado		[mAs][mA][mA][mU][mA][mG][mA][fG][fA][fA][fA][mU][mG][mA][mG][mU][mG][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1067
STAT3-2693	36 mer modificado		[mAs][mA][mU][mA][mG][mA][mG][fA][fA][fA][fU][mG][mA][mG][mU][mG][mA][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1068
STAT3-2627	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mUs][mU][mG][mU][mG][mG][mU][fU][fC][fC][fA][mG][mA][mU][mU][mU][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1069
STAT3-2626	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mUs][mU][mU][mG][mU][mG][mG][fU][fU][fC][fC][mA][mG][mA][mU][mU][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1070
STAT3-2407	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mUs][mU][mC][mA][mU][mU][mG][fA][fU][fG][fC][mA][mG][mU][mU][mU][mG][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1071
STAT3-2412	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mUs][mG][mA][mU][mG][mC][mA][fG][fU][fU][fU][mG][mG][mA][mA][mA][mU][	1072

			mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-2151	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mAs][mC][mA][mU][mG][mU][mC][fA][fU][fU][fU][mG][mC][mU][mG][mA][mA][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1073
STAT3-2625	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mCs][mU][mU][mU][mG][mU][mG][fG][fU][fU][fC][mC][mA][mG][mA][mU][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1074
STAT3-4836	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mUs][mA][mA][mA][mA][mA][mU][fU][fU][fA][fU][mA][mU][mU][mA][mU][mU][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1075
STAT3-2408	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mUs][mC][mA][mU][mU][mG][mA][fU][fG][fC][fA][mG][mU][mU][mU][mG][mG][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1076
STAT3-2159	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mUs][mU][mU][mG][mC][mU][mG][fA][fA][fA][fU][mC][mA][mU][mC][mA][mU][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1077
STAT3-2146	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mGs][mA][mA][mC][mA][mA][mC][fA][fU][fG][fU][mC][mA][mU][mU][mU][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1078

STAT3-2148	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mAs][mC][mA][mA][mC][mA][mU][fG][fU][fC][fA][mU][mU][mU][mG][mC][mU][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1079
STAT3-2147	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mAs][mA][mC][mA][mA][mC][mA][fU][fG][fU][fC][mA][mU][mU][mU][mG][mC][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1080
STAT3-0461	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mCs][mG][mA][mA][mG][mA][mA][fU][fC][fA][fA][mG][mC][mA][mG][mU][mU][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1081
STAT3-1584	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mCs][mC][mU][mU][mG][mC][mC][fA][fG][fU][fU][mG][mU][mG][mG][mU][mG][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1082
STAT3-1047	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mAs][mA][mC][mA][mA][mA][mU][fU][fA][fA][fG][mA][mA][mA][mC][mU][mG][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1083
STAT3-0773	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mCs][mU][mG][mA][mA][mU][mG][fG][fA][fA][fA][mC][mA][mA][mC][mC][mA][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1084
STAT3-0492	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mAs][mU][mC][mU][mU][mG][mA][fG][fA][fA][fG][mC][mC][mA][mA][mU][mG][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][m	1085

			C][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-0462	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mGs][mA][mA][mG][mA][mA][mU][fC][fA][fA][fG][mC][mA][mG][mU][mU][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1086
STAT3-1586	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mUs][mU][mG][mC][mC][mA][mG][fU][fU][fG][fU][mG][mG][mU][mG][mA][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1087
STAT3-0771	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mAs][mU][mC][mU][mG][mA][mA][fU][fG][fG][fA][mA][mA][mC][mA][mA][mC][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1088
STAT3-0681	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mAs][mU][mC][mU][mA][mG][mA][fA][fC][fA][fG][mA][mA][mA][mA][mU][mG][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1089
STAT3-0678	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mAs][mG][mG][mA][mU][mC][mU][fA][fG][fA][fA][mC][mA][mG][mA][mA][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1090
STAT3-4837	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mAs][mA][mA][mA][mA][mU][mU][fU][fA][fU][fA][mU][mU][mA][mU][mU][mG][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1091

STAT3-4833	36 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[mGs][mU][mG][mU][mA][mA][mA][fA][fA][fU][fU][mU][mA][mU][mA][mU][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1092
STAT3-1068	36 mer modificado	Hs	[mAs][mG][mU][mU][mG][mC][mA][fG][fC][fA][fA][mA][mA][mA][mG][mU][mU][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1093
STAT3-1673	36 mer modificado	Hs	[mAs][mA][mG][mA][mA][mU][mG][fU][fA][fA][fA][mC][mU][mU][mU][mU][mU][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1094
STAT3-0426	36 mer modificado	Hs	[mUs][mG][mC][mA][mA][mG][mA][fG][fU][fC][fG][mA][mA][mU][mG][mU][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1095
STAT3-2404	36 mer modificado	Hs	[mAs][mG][mA][mU][mU][mC][mA][fU][fU][fG][fA][mU][mG][mC][mA][mG][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1096
STAT3-1067	36 mer modificado	Hs	[mGs][mA][mG][mU][mU][mG][mC][fA][fG][fC][fA][mA][mA][mA][mA][mG][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1097
STAT3-0433	36 mer modificado	Hs	[mGs][mU][mC][mG][mA][mA][mU][fG][fU][fU][fC][mU][mC][mU][mA][mU][mC][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-	1098

			GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-1670	36 mer modificado	Hs	[mCs][mC][mC][mA][mA][mG][mA][fA][fU][fG][fU][mA][mA][mA][mC][mU][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1099
STAT3-1388	36 mer modificado	Hs	[mGs][mU][mG][mA][mU][mG][mA][fA][fC][fA][fU][mG][mG][mA][mA][mG][mA][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1100
STAT3-0429	36 mer modificado	Hs	[mAs][mA][mG][mA][mG][mU][mC][fG][fA][fA][fU][mG][mU][mU][mC][mU][mC][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1101
STAT3-2405	36 mer modificado	Hs	[mGs][mA][mU][mU][mC][mA][mU][fU][fG][fA][fU][mG][mC][mA][mG][mU][mU][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1102
STAT3-0430	36 mer modificado	Hs	[mAs][mG][mA][mG][mU][mC][mG][fA][fA][fU][fG][mU][mU][mC][mU][mC][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1103
STAT3-0432	36 mer modificado	Hs	[mAs][mG][mU][mC][mG][mA][mA][fU][fG][fU][fU][mC][mU][mC][mU][mA][mU][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1104
STAT3-	36 mer	Hs	[mCs][mU][mG][mG][mU][mG][mU][fG][f	1105

1815	modificado		A][fA][fU][mU][mA][mU][mU][mC][mA][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-0424	36 mer modificado	Hs	[mCs][mC][mU][mG][mC][mA][mA][fG][fA][fG][fU][mC][mG][mA][mA][mU][mG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1106
STAT3-2024	36 mer modificado	Hs	[mAs][mC][mC][mU][mU][mC][mC][fU][fG][fC][fU][mA][mA][mG][mA][mU][mU][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1107
STAT3-1813	36 mer modificado	Hs	[mAs][mC][mC][mU][mG][mG][mU][fG][fU][fG][fA][mA][mU][mU][mA][mU][mU][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1108
STAT3-1674	36 mer modificado	Hs	[mAs][mG][mA][mA][mU][mG][mU][fA][fA][fA][fC][mU][mU][mU][mU][mU][mU][mA][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1109
STAT3-1241	36 mer modificado	Hs	[mCs][mA][mG][mU][mU][mC][mA][fC][fU][fA][fC][mU][mA][mA][mA][mG][mU][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1110
STAT3-1672	36 mer modificado	Hs	[mCs][mA][mA][mG][mA][mA][mU][fG][fU][fA][fA][mA][mC][mU][mU][mU][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1111

			GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-0425	36 mer modificado	Hs	[mCs][mU][mG][mC][mA][mA][mG][fA][fG][fU][fC][mG][mA][mA][mU][mG][mU][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1112
STAT3-1817	36 mer modificado	Hs	[mGs][mG][mU][mG][mU][mG][mA][fA][fU][fU][fA][mU][mU][mC][mA][mG][mG][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1113
STAT3-1671	36 mer modificado	Hs	[mCs][mC][mA][mA][mG][mA][mA][fU][fG][fU][fA][mA][mA][mC][mU][mU][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1114
STAT3-2136	36 mer modificado	Hs-Mm	[mAs][mG][mC][mA][mG][mC][mA][fG][fC][fU][fG][mA][mA][mC][mA][mA][mC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1115
STAT3-2143	36 mer modificado	Hs-Mm	[mGs][mC][mU][mG][mA][mA][mC][fA][fA][fC][fA][mU][mG][mU][mC][mA][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1116
STAT3-2144	36 mer modificado	Hs-Mm	[mCs][mU][mG][mA][mA][mC][mA][fA][fC][fA][fU][mG][mU][mC][mA][mU][mU][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1117
STAT3-2138	36 mer modificado	Hs-Mm	[mCs][mA][mG][mC][mA][mG][mC][fU][fG][fA][fA][mC][mA][mA][mC][mA][mU][	1118

			mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	
STAT3-4909	36 mer modificado	Hs-Mm	[mUs][mU][mU][mA][mA][mC][mU][fU][fC][fC][fA][mG][mA][mA][mA][mU][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1119
STAT3-2139	36 mer modificado	Hs-Mm	[mAs][mG][mC][mA][mG][mC][mU][fG][fA][fA][fC][mA][mA][mC][mA][mU][mG][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1120
STAT3-2411	36 mer modificado	Hs-Mm	[mUs][mU][mG][mA][mU][mG][mC][fA][fG][fU][fU][mU][mG][mG][mA][mA][mA][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1121
STAT3-2145	36 mer modificado	Hs-Mm	[mUs][mG][mA][mA][mC][mA][mA][fC][fA][fU][fG][mU][mC][mA][mU][mU][mU][mG][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1122
STAT3-4831	36 mer modificado	Hs-Mm	[mUs][mA][mG][mU][mG][mU][mA][fA][fA][fA][fA][mU][mU][mU][mA][mU][mA][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1123
STAT3-2622	36 mer modificado	Hs-Mm	[mUs][mA][mA][mC][mU][mU][mU][fG][fU][fG][fG][mU][mU][mC][mC][mA][mG][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1124

STAT3-2135	36 mer modificado	Hs-Mm	[mAs][mA][mG][mC][mA][mG][mC][fA][fG][fC][fU][mG][mA][mA][mC][mA][mA][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1125
STAT3-1383	36 mer modificado	Hs-Mm	[mCs][mA][mA][mA][mA][mG][mU][fG][fA][fU][fG][mA][mA][mC][mA][mU][mG][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	1126
STAT3-715	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fGs][fAs][fA][fA][mU][fC][mA][mA][fA][mG][mU][mC][fA][mU][mC][mC][mU][mG][mGs][mGs][mG]	1127
STAT3-716	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fGs][fA][fA][mA][fU][mC][mA][fA][mA][mG][mU][fC][mA][mU][mC][mC][mU][mGs][mGs][mG]	1128
STAT3-717	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fUs][fG][fA][mA][fA][mU][mC][fA][mA][mA][mG][fU][mC][mA][mU][mC][mC][mUs][mGs][mG]	1129
STAT3-720	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fAs][fG][fU][mU][fG][mA][mA][fA][mU][mC][mA][fA][mA][mG][mU][mC][mA][mUs][mGs][mG]	1130
STAT3-372	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fU][mU][fA][mU][mG][fA][mA][mA][mC][fA][mC][mC][mA][mA][mA][mGs][mGs][mG]	1131
STAT3-721	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fUs][fA][fG][mU][fU][mG][mA][fA][mA][mU][mC][fA][mA][mA][mG][mU][mC][mAs][mGs][mG]	1132
STAT3-	22 mer		[MeFosfonato-4O-	1133

722	modificado		mUs][fUs][fAs][fU][fA][mG][fU][mU][mG][fA][mA][mA][mU][fC][mA][mA][mA][mG][mU][mCs][mGs][mG]	
STAT3-768	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fUs][fG][fU][mU][fU][mC][mC][fA][mU][mU][mC][fA][mG][mA][mU][mC][mU][mUs][mGs][mG]	1134
STAT3-1001	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fUs][fG][fA][mC][fG][mU][mU][fA][mU][mC][mC][fA][mG][mU][mU][mU][mU][mCs][mGs][mG]	1135
STAT3-1006	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fGs][fC][fU][mA][fA][mU][mG][fA][mC][mG][mU][fU][mA][mU][mC][mC][mA][mGs][mGs][mG]	1136
STAT3-1145	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fCs][fA][fU][mU][fA][mA][mG][fU][mU][mU][mC][fU][mA][mA][mA][mC][mA][mGs][mGs][mG]	1137
STAT3-1151	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fAs][fC][fU][mU][fU][mU][mC][fA][mU][mU][mA][fA][mG][mU][mU][mU][mC][mUs][mGs][mG]	1138
STAT3-1268	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fCs][fA][fA][mC][fU][mC][mA][fG][mG][mG][mA][fA][mU][mU][mU][mG][mA][mCs][mGs][mG]	1139
STAT3-1273	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fUs][fA][fA][mU][fU][mC][mA][fA][mC][mU][mC][fA][mG][mG][mG][mA][mA][mUs][mGs][mG]	1140
STAT3-1279	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fAs][fG][fC][mU][fG][mA][mU][fA][mA][mU][mU][fC][mA][mA][mC][mU][mC][mAs][mGs][mG]	1141
STAT3-1280	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fAs][fA][fG][mC][fU][mG][mA]	1142

			[[fU][mA][mA][mU][fU][mC][mA][mA][mC][mU][mCs][mGs][mG]	
STAT3-1281	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fUs][fA][fA][mG][fC][mU][mG][fA][mU][mA][mA][fU][mU][mC][mA][mA][mC][mUs][mGs][mG]	1143
STAT3-1284	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fUs][fU][fU][mU][fA][mA][mG][fC][mU][mG][mA][fU][mA][mA][mU][mU][mC][mAs][mGs][mG]	1144
STAT3-1286	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fAs][fA][fU][mU][fU][mU][mA][fA][mG][mC][mU][fG][mA][mU][mA][mA][mU][mUs][mGs][mG]	1145
STAT3-1287	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fUs][fA][fA][mU][fU][mU][mU][fA][mA][mG][mC][fU][mG][mA][mU][mA][mA][mUs][mGs][mG]	1146
STAT3-1292	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fCs][fA][fC][mU][fU][mU][mA][fA][mU][mU][mU][fU][mA][mA][mG][mC][mU][mGs][mGs][mG]	1147
STAT3-1293	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fAs][fC][fA][mC][fU][mU][mU][fA][mA][mU][mU][fU][mU][mA][mA][mG][mC][mUs][mGs][mG]	1148
STAT3-1819	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fCs][fA][fC][mC][fC][mU][mG][fA][mA][mU][mA][fA][mU][mU][mC][mA][mC][mAs][mGs][mG]	1149
STAT3-1908	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fCs][fA][fA][mG][fG][mU][mC][fA][mA][mU][mG][fA][mU][mA][mU][mU][mG][mUs][mGs][mG]	1150
STAT3-1910	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fCs][fA][fC][mA][fA][mG][mG][fU][mC][mA][mA][fU][mG][mA][mU][m	1151

			A][mU][mUs][mGs][mG]	
STAT3-1913	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fUs][fU][fU][mC][fA][mC][mA][fA][mG][mG][mU][fC][mA][mA][mU][mG][mA][mUs][mGs][mG]	1152
STAT3-2154	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fUs][fG][fA][mU][fU][mU][mC][fA][mG][mC][mA][fA][mA][mU][mG][mA][mC][mAs][mGs][mG]	1153
STAT3-2327	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fU][mA][fA][mA][mC][fU][mU][mG][mG][fU][mC][mU][mU][mC][mA][mGs][mGs][mG]	1154
STAT3-2335	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fGs][fU][fC][mA][fC][mA][mC][fA][mG][mA][mU][fA][mA][mA][mC][mU][mU][mGs][mGs][mG]	1155
STAT3-2418	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fCs][fA][fC][mC][fA][mU][mU][fA][mU][mU][mU][fC][mC][mA][mA][mA][mC][mUs][mGs][mG]	1156
STAT3-2692	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fUs][fC][fA][mC][fU][mC][mA][fU][mU][mU][mC][fU][mC][mU][mA][mU][mU][mUs][mGs][mG]	1157
STAT3-2693	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fUs][fU][fC][mA][fC][mU][mC][fA][mU][mU][mU][fC][mU][mC][mU][mA][mU][mUs][mGs][mG]	1158
STAT3-2627	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fA][fA][mA][fA][mU][mC][fU][mG][mG][mA][fA][mC][mC][mA][mC][mA][mAs][mGs][mG]	1159
STAT3-2626	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fA][fA][mA][fU][mC][mU][fG][mG][mA][mA][fC][mC][mA][mC][mA][mA][mAs][mGs][mG]	1160

STAT3-2407	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fC][fC][fA][mA][fA][mC][mU][fG][mC][mA][mU][fC][mA][mA][mU][mG][mA][mAs][mGs][mG]	1161
STAT3-2412	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fU][fA][fU][mU][fU][mC][mC][fA][mA][mA][mC][fU][mG][mC][mA][mU][mC][mAs][mGs][mG]	1162
STAT3-2151	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fU][fU][mC][fA][mG][mC][fA][mA][mA][mU][fG][mA][mC][mA][mU][mG][mUs][mGs][mG]	1163
STAT3-2625	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fA][fA][mU][fC][mU][mG][fG][mA][mA][mC][fC][mA][mC][mA][mA][mA][mGs][mGs][mG]	1164
STAT3-4836	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fC][fA][fA][mU][fA][mA][mU][fA][mU][mA][mA][fA][mU][mU][mU][mU][mU][mAs][mGs][mG]	1165
STAT3-2408	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fU][fC][fC][mA][fA][mA][mC][fU][mG][mC][mA][fU][mC][mA][mA][mU][mG][mAs][mGs][mG]	1166
STAT3-2159	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fC][fA][fU][mG][fA][mU][mG][fA][mU][mU][mU][fC][mA][mG][mC][mA][mA][mAs][mGs][mG]	1167
STAT3-2146	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fG][fC][fA][mA][fA][mU][mG][fA][mC][mA][mU][fG][mU][mU][mG][mU][mU][mCs][mGs][mG]	1168
STAT3-2148	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fC][fA][fG][mC][fA][mA][mA][fU][mG][mA][mC][fA][mU][mG][mU][mU][mG][mUs][mGs][mG]	1169

STAT3-2147	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fA][fG][fC][mA][fA][mA][mU][fG][mA][mC][mA][fU][mG][mU][mU][mG][mU][mUs][mGs][mG]	1170
STAT3-0461	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fGs][fA][fA][fA][mC][fU][mG][mC][fU][mU][mG][mA][fU][mU][mC][mU][mU][mC][mGs][mGs][mG]	1171
STAT3-1584	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fC][fA][mC][fC][mA][mC][fA][mA][mC][mU][fG][mG][mC][mA][mA][mG][mGs][mGs][mG]	1172
STAT3-1047	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fC][fC][fA][mG][fU][mU][mU][fC][mU][mU][mA][fA][mU][mU][mU][mG][mU][mUs][mGs][mG]	1173
STAT3-0773	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fC][fU][fG][mG][fU][mU][mG][fU][mU][mU][mC][fC][mA][mU][mU][mC][mA][mGs][mGs][mG]	1174
STAT3-0492	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fC][fC][fA][mU][fU][mG][mG][fC][mU][mU][mC][fU][mC][mA][mA][mG][mA][mUs][mGs][mG]	1175
STAT3-0462	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fG][fA][fA][mA][fC][mU][mG][fC][mU][mU][mG][fA][mU][mU][mC][mU][mU][mCs][mGs][mG]	1176
STAT3-1586	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fG][fA][fU][mC][fA][mC][mC][fA][mC][mA][mA][fC][mU][mG][mG][mC][mA][mAs][mGs][mG]	1177
STAT3-0771	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fG][fG][fU][mU][fG][mU][mU][fU][mC][mC][mA][fU][mU][mC][mA][mG][mA][mUs][mGs][mG]	1178
STAT3-	22 mer	Hs-Mf-	[MeFosfonato-4O-	1179

0681	modificado	Mm	mUs][fUs][fU][fC][fA][mU][fU][mU][mU][fC][mU][mG][mU][fU][mC][mU][mA][mG][mA][mUs][mGs][mG]	
STAT3-0678	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fU][fU][mU][fC][mU][mG][fU][mU][mC][mU][fA][mG][mA][mU][mC][mC][mUs][mGs][mG]	1180
STAT3-4837	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fA][fC][fA][mA][fU][mA][mA][fU][mA][mU][mA][fA][mA][mU][mU][mU][mU][mUs][mGs][mG]	1181
STAT3-4833	22 mer modificado	Hs-Mf-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fA][fA][mU][fA][mU][mA][fA][mA][mU][mU][fU][mU][mU][mA][mC][mA][mCs][mGs][mG]	1182
STAT3-1068	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fGs][fA][fA][fA][mC][fU][mU][mU][fU][mU][mG][mC][fU][mG][mC][mA][mA][mC][mUs][mGs][mG]	1183
STAT3-1673	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fA][fA][fA][mA][fA][mA][mG][fU][mU][mU][mA][fC][mA][mU][mU][mC][mU][mUs][mGs][mG]	1184
STAT3-0426	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fG][fA][fA][mC][fA][mU][mU][fC][mG][mA][mC][fU][mC][mU][mU][mG][mC][mAs][mGs][mG]	1185
STAT3-2404	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fA][fC][mU][fG][mC][mA][fU][mC][mA][mA][fU][mG][mA][mA][mU][mC][mUs][mGs][mG]	1186
STAT3-1067	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fA][fC][mU][fU][mU][mU][fU][mG][mC][mU][fG][mC][mA][mA][mC][mU][mCs][mGs][mG]	1187
STAT3-0433	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fU][fG][fA][mU][fA][mG][mA][	1188

			fG][mA][mA][mC][fA][mU][mU][mC][mG][mA][mCs][mGs][mG]	
STAT3-1670	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fA][fA][mG][fU][mU][mU][fA][mC][mA][mU][fU][mC][mU][mU][mG][mG][mGs][mGs][mG]	1189
STAT3-1388	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fU][fC][mU][fU][mC][mC][fA][mU][mG][mU][fU][mC][mA][mU][mC][mA][mCs][mGs][mG]	1190
STAT3-0429	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fA][fG][fA][mG][fA][mA][mC][fA][mU][mU][mC][fG][mA][mC][mU][mC][mU][mUs][mGs][mG]	1191
STAT3-2405	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fA][fA][fA][mC][fU][mG][mC][fA][mU][mC][mA][fA][mU][mG][mA][mA][mU][mCs][mGs][mG]	1192
STAT3-0430	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fA][fG][mA][fG][mA][mA][fC][mA][mU][mU][fC][mG][mA][mC][mU][mC][mUs][mGs][mG]	1193
STAT3-0432	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fG][fA][fU][mA][fG][mA][mG][fA][mA][mC][mA][fU][mU][mC][mG][mA][mC][mUs][mGs][mG]	1194
STAT3-1815	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fC][fU][fG][mA][fA][mU][mA][fA][mU][mU][mC][fA][mC][mA][mC][mC][mA][mGs][mGs][mG]	1195
STAT3-0424	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fC][fA][mU][fU][mC][mG][fA][mC][mU][mC][fU][mU][mG][mC][mA][mG][mGs][mGs][mG]	1196
STAT3-2024	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fG][fA][fA][mU][fC][mU][mU][fA][mG][mC][mA][fG][mG][mA][mA][mG]	1197

			][mG][mUs][mGs][mG]	
STAT3-1813	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fG][fA][fA][mU][fA][mA][mU][fU][mC][mA][mC][fA][mC][mC][mA][mG][mG][mUs][mGs][mG]	1198
STAT3-1674	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fGs][fU][fA][fA][mA][fA][mA][mA][fG][mU][mU][mU][fA][mC][mA][mU][mU][mC][mUs][mGs][mG]	1199
STAT3-1241	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fG][fA][fC][mU][fU][mU][mA][fG][mU][mA][mG][fU][mG][mA][mA][mC][mU][mGs][mGs][mG]	1200
STAT3-1672	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fG][fA][fC][mU][fU][mU][mA][fG][mU][mA][mG][fU][mG][mA][mA][mC][mU][mGs][mGs][mG]	1201
STAT3-0425	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fGs][fA][fA][fC][mA][fU][mU][mC][fG][mA][mC][mU][fC][mU][mU][mG][mC][mA][mGs][mGs][mG]	1202
STAT3-1817	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fC][fC][fC][mU][fG][mA][mA][fU][mA][mA][mU][fU][mC][mA][mC][mA][mC][mCs][mGs][mG]	1203
STAT3-1671	22 mer modificado	Hs	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fA][fA][mA][fG][mU][mU][fU][mA][mC][mA][fU][mU][mC][mU][mU][mG][mGs][mGs][mG]	1204
STAT3-2136	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fG][fU][mU][fG][mU][mU][fC][mA][mG][mC][fU][mG][mC][mU][mG][mC][mUs][mGs][mG]	1205
STAT3-	22 mer	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-	1206

2143	modificado		mUs][fAs][fA][fU][mG][fA][mC][mA][fU][mG][mU][mU][fG][mU][mU][mC][mA][mG][mCs][mGs][mG]	
STAT3-2144	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fCs][fA][fA][fA][mU][fG][mA][mC][fA][mU][mG][mU][fU][mG][mU][mU][mC][mA][mGs][mGs][mG]	1207
STAT3-2138	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fC][fA][fU][mG][fU][mU][mG][fU][mU][mC][mA][fG][mC][mU][mG][mC][mU][mGs][mGs][mG]	1208
STAT3-4909	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fU][fU][fA][mU][fU][mU][mC][fU][mG][mG][mA][fA][mG][mU][mU][mA][mA][mAs][mGs][mG]	1209
STAT3-2139	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fGs][fA][fC][fA][mU][fG][mU][mU][fG][mU][mU][mC][fA][mG][mC][mU][mG][mC][mUs][mGs][mG]	1210
STAT3-2411	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fA][fU][fU][mU][fC][mC][mA][fA][mA][mC][mU][fG][mC][mA][mU][mC][mA][mAs][mGs][mG]	1211
STAT3-2145	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fGs][fC][fA][fA][mA][fU][mG][mA][fC][mA][mU][mG][fU][mU][mG][mU][mU][mC][mAs][mGs][mG]	1212
STAT3-4831	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fA][fU][fA][mU][fA][mA][mA][fU][mU][mU][mU][fU][mA][mC][mA][mC][mU][mAs][mGs][mG]	1213
STAT3-2622	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fAs][fU][fC][fU][mG][fG][mA][mA][fC][mC][mA][mC][fA][mA][mA][mG][mU][mU][mAs][mGs][mG]	1214
STAT3-2135	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fG][fU][fU][mG][fU][mU][mC][	1215

			fA][mG][mC][mU][fG][mC][mU][mG][mC][mU][mUs][mGs][mG]	
STAT3-1383	22 mer modificado	Hs-Mm	[MeFosfonato-4O-mUs][fUs][fG][fU][mG][fU][mU][mC][fA][mG][mC][mU][fG][mC][mU][mG][mC][mU][mUs][mGs][mG]	1216
NM_139276.3 secuenci a de nucleóti dos de STAT3 humano			GTTCGAGCCGAGGGAACAAGCCCCA ACCGGATCCTGGACAGGCACCCCGGC TTGGCGCTGTCTCTCCCCCTCGGCTCG GAGAGGCCCTTCGGCCTGAGGGAGCC TCGCCGCCCGTCCCCGGCACACGCGC AGCCCCGGCCTCTCGGCCTCTGCCGG AGAAACAGTTGGGACCCCTGATTTTA GCAGGATGGCCCAATGGAATCAGCTA CAGCAGCTTGACACACGGTACCTGGA GCAGTCCATCAGCTCTACAGTGACA GCTTCCCAATGGAGCTGCGGCAGTTT CTGGCCCCCTTGGATTGAGAGTCAAGA TTGGGCATATGCGGCCAGCAAAGAAT CACATGCCACTTTGGTGTTTCATAATC TCCTGGGAGAGATTGACCAGCAGTAT AGCCGCTTCCTGCAAGAGTCGAATGT TCTCTATCAGCACAATCTACGAAGAA TCAAGCAGTTTCTTCAGAGCAGGTAT CTTGAGAAGCCAATGGAGATTGCCCG GATTGTGGCCCGGTGCCTGTGGGAAG AATCACGCCTTCTACAGACTGCAGCC ACTGCGGCCCAGCAAGGGGGGCCAGG CCAACCACCCACAGCAGCCGTGGTG ACGGAGAAGCAGCAGATGCTGGAGC AGCACCTTCAGGATGTCCGGAAGAGA GTGCAGGATCTAGAACAGAAAATGA AAGTGGTAGAGAATCTCCAGGATGAC TTTGATTTCAACTATAAAACCCTCAA GAGTCAAGGAGACATGCAAGATCTG AATGGAAACAACCAGTCAGTGACCA GGCAGAAGATGCAGCAGCTGGAACA GATGCTCACTGCGCTGGACCAGATGC GGAGAAGCATCGTGAGTGAGCTGGC GGGGCTTTTGTGTCAGCGATGGAGTACG TGCAGAAAACCTCTCACGGACGAGGA GCTGGCTGACTGGAAGAGGCGGCAA CAGATTGCCTGCATTGGAGGCCCGCC CAACATCTGCCTAGATCGGCTAGAAA	1217

			ACTGGATAACGTCATTAGCAGAATCT CAACTTCAGACCCGTCAACAAATTAA GAAACTGGAGGAGTTGCAGCAAAAA GTTTCCTACAAAGGGGACCCCATTTGT ACAGCACCGGCCGATGCTGGAGGAG AGAATCGTGGAGCTGTTTAGAAACTT AATGAAAAGTGCCTTTGTGGTGGAGC GGCAGCCCTGCATGCCCATGCATCCT GACCGGGCCCCTCGTCATCAAGACCGG CGTCCAGTTCACTACTAAAGTCAGGT TGCTGGTCAAATTCCCTGAGTTGAAT TATCAGCTTAAAATTAAAGTGTGCAT TGACAAAGACTCTGGGGACGTTGCAG CTCTCAGAGGATCCCGGAAATTTAAC ATTCTGGGCACAAACACAAAAGTGAT GAACATGGAAGAATCCAACAACGGC AGCCTCTCTGCAGAATTCAAACACTT GACCCTGAGGGAGCAGAGATGTGGG AATGGGGGCCGAGCCAATTGTGATGC TTCCCTGATTGTGACTGAGGAGCTGC ACCTGATCACCTTTGAGACCGAGGTG TATCACCAAGGCCTCAAGATTGACCT AGAGACCCACTCCTTGCCAGTTGTGG TGATCTCCAACATCTGTCAGATGCCA AATGCCTGGGCGTCCATCCTGTGGTA CAACATGCTGACCAACAATCCCAAGA ATGTAAACTTTTTTACCAAGCCCCCA ATTGGAACCTGGGATCAAGTGGCCGA GGTCCTGAGCTGGCAGTTCTCCTCCA CCACCAAGCGAGGACTGAGCATCGA GCAGCTGACTACACTGGCAGAGAAA CTCTTGGGACCTGGTGTGAATTATTC AGGGTGTGAGATCACATGGGCTAAAT TTTGCAAAGAAAACATGGCTGGCAAG GGCTTCTCCTTCTGGGTCTGGCTGGA CAATATCATTGACCTTGTGAAAAAGT ACATCCTGGCCCTTTGGAACGAAGGG TACATCATGGGCTTTATCAGTAAGGA GCGGGAGCGGGCCATCTTGAGCACTA AGCCTCCAGGCACCTTCCTGCTAAGA TTCAGTGAAAGCAGCAAAGAAGGAG GCGTCACTTTCACTTGGGTGGAGAAG GACATCAGCGGTAAGACCCAGATCCA GTCCGTGGAACCATACACAAAGCAGC AGCTGAACAACATGTCATTTGCTGAA ATCATCATGGGCTATAAGATCATGGA TGCTACCAATATCCTGGTGTCTCCACT	
--	--	--	---	--

			GGTCTATCTCTATCCTGACATTCCCAA GGAGGAGGCATTTCGGAAAGTATTGTC GGCCAGAGAGCCAGGAGCATCCTGA AGCTGACCCAGGTAGCGCTGCCCCAT ACCTGAAGACCAAGTTTATCTGTGTG ACACCAACGACCTGCAGCAATACCAT TGACCTGCCGATGTCCCCCGCACTT TAGATTCATTGATGCAGTTTGGAAT AATGGTGAAGGTGCTGAACCCTCAGC AGGAGGGCAGTTTGAGTCCCTCACCT TTGACATGGAGTTGACCTCGGAGTGC GCTACCTCCCCCATGTGAGGAGCTGA GAACGGAAGCTGCAGAAAGATACGA CTGAGGCGCCTACCTGCATTCTGCCA CCCCTCACACAGCCAAACCCAGATC ATCTGAACTACTAACTTTGTGGTTC CAGATTTTTTTTAATCTCCTACTTCTG CTATCTTTGAGCAATCTGGGCACTTTT AAAAATAGAGAAATGAGTGAATGTG GGTGATCTGCTTTTATCTAAATGCAA ATAAGGATGTGTTCTCTGAGACCCAT GATCAGGGGATGTGGCGGGGGGTGG CTAGAGGGAGAAAAAGGAAATGTCT TGTGTTGTTTTGTTCCCTGCCCTCCT TTCTCAGCAGCTTTTTGTTATTGTTGT TGTTGTTCTTAGACAAGTGCCTCCTG GTGCCTGCGGCATCCTTCTGCCTGTTT CTGTAAGCAAATGCCACAGGCCACCT ATAGCTACATACTCCTGGCATTGCAC TTTTTAACCTTGCTGACATCCAAATA GAAGATAGGACTATCTAAGCCCTAGG TTTCTTTTTAAATTAAGAAATAATAA CAATTAAAGGGCAAAAAACACTGTAT CAGCATAGCCTTTCTGTATTTAAGAA ACTTAAGCAGCCGGGCATGGTGGCTC ACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGA GGCCGAGGCGGATCATAAGGTCAGG AGATCAAGACCATCCTGGCTAACACG GTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAGTA CAAAAAATTAGCTGGGTGTGGTGGTG GGCGCCTGTAGTCCCAGCTACTCGGG AGGCTGAGGCAGGAGAATCGCTTGA ACCTGAGAGGCGGAGGTTGCAGTGA GCCAAAATTGCACCACTGCACACTGC ACTCCATCCTGGGCGACAGTCTGAGA CTCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAGAACTTCAGTTAACAGCCTCC	
--	--	--	---	--

			TTGGTGCTTTAAGCATTTCAGCTTCCTT CAGGCTGGTAATTTATATAATCCCTG AAACGGGCTTCAGGTCAAACCCTTAA GACATCTGAAGCTGCAACCTGGCCTT TGGTGTTGAAATAGGAAGGTTTAAGG AGAATCTAAGCATTTTAGACTTTTTTT TATAAATAGACTTATTTTCCTTTGTAA TGTATTGGCCTTTTAGTGAGTAAGGC TGGGCAGAGGGTGCTTACAACCTTGA CTCCCTTTCTCCCTGGACTTGATCTGC TGTTTCAGAGGCTAGGTTGTTTCTGTG GGTGCCTTATCAGGGCTGGGATACTT CTGATTCTGGCTTCCTTCCTGCCCCAC CCTCCCGACCCCAGTCCCCCTGATCC TGCTAGAGGCATGTCTCCTTGCGTGT CTAAAGGTCCCTCATCCTGTTTGT AGGAATCCTGGTCTCAGGACCTCATG GAAGAAGAGGGGGAGAGAGTTACAG GTTGGACATGATGCACACTATGGGGC CCCAGCGACGTGTCTGGTTGAGCTCA GGGAATATGGTTCTTAGCCAGTTTCT TGGTGATATCCAGTGGCACTTGTAAT GGCGTCTTCATTCAGTTCATGCAGGG CAAAGGCTTACTGATAAACTTGAGTC TGCCCTCGTATGAGGGTGTATACCTG GCCTCCCTCTGAGGCTGGTGACTCCT CCCTGCTGGGGCCCCACAGGTGAGGC AGAACAGCTAGAGGGCCTCCCCGCCT GCCCCCCTTGGCTGGCTAGCTCGCCT CTCCTGTGCGTATGGGAACACCTAGC ACGTGCTGGATGGGCTGCCTCTGACT CAGAGGCATGGCCGGATTTGGCAACT CAAAACCACCTTGCCTCAGCTGATCA GAGTTTCTGTGGAATTCTGTTTGTAA ATCAAATTAGCTGGTCTCTGAATTAA GGGGGAGACGACCTTCTCTAAGATGA ACAGGGTTCGCCCCAGTCCTCCTGCC TGGAGACAGTTGATGTGTCATGCAGA GCTCTTACTTCTCCAGCAACACTCTTC AGTACATAATAAGCTTAACTGATAAA CAGAATATTTAGAAAGGTGAGACTTG GGCTTACCATTGGGTTTAAATCATAG GGACCTAGGGCGAGGGTTCAGGGCTT CTCTGGAGCAGATATTGTCAAGTTCA TGGCCTTAGGTAGCATGTATCTGGTC TTAACTCTGATTGTAGCAAAAGTTCT GAGAGGAGCTGAGCCCTGTTGTGGCC	
--	--	--	---	--

			CATTAAAGAACAGGGTCCTCAGGCC TGCCCGCTTCCTGTCCACTGCCCCCTC CCCATCCCCAGCCCAGCCGAGGGAAT CCCGTGGGTTGCTTACCTACCTATAA GGTGGTTTATAAGCTGCTGTCTGGC CACTGCATTCAAATTCCAATGTGTAC TTCATAGTGTAAAAATTTATATTATTG TGAGGTTTTTTGTCTTTTTTTTTTTTT TTTTTTTTTGGTATATTGCTGTATCTAC TTAACTTCCAGAAATAAACGTTATA TAGGAACCGTC	
XM_005 584240. 2 Secuenci a de nucleóti dos de STAT3 de primate no humano			TGCATGACGGCGTGCCTCGGCCAGGC TGGGGCTGGGCGGGGATTGGCTGAA GGGGCTGTAATTCAGCGGTTTCCGGA GCTGCGGCGGCGTAGACCGGGAGGG GGAGCCGGGGGTTCGACGTAGCAG CCGAGGGAACAAGCCCCAACCGGAT CCTGGACAGGCACCCCGGCTCGGCGC TGTCTCTCCCCCTCGGCTCGGATAAG CCCTCCGGCCTGAGGGAGCCCCGTCG CCCGCCCCCGGCGCACGCGCAGCCCC GGCCTCTCGGCCTCTGCTGGAGAAAC AGCAGGATGGCCCAATGGAATCAGCT ACAGCAGCTTGACACACGGTACCTGG AGCAGCTCCATCAGCTCTACAGTGAC AGCTTCCCAATGGAGTTGCGGCAGTT TCTGGCCCCTTGGATTGAGAGTCAAG ATTGGGCATATGCGGCCAGCAAAGA ATCACATGCCACTTTGGTGTTTCATA ATCTCCTGGGCGAGATTGACCAGCAG TATAGCCGCTTCCTGCAAGAATCGAA TGTTCTCTATCAGCACAATCTACGAA GAATCAAGCAGTTTCTTCAGAGCAGG TATCTTGAGAAGCCAATGGAGATTGC CCGATTGTGGCCCGGTGCCTGTGGG AAGAGTCACGCCTCCTACAGACTGCA GCCACTGCGGCCCAGCAAGGGGGCC AGGCCAACCACCCACAGCAGCTGTG GTGACGGAGAAGCAGCAGATGCTGG AGCAGCACCTTCAGGATGTCCGGAAG AGAGTACAGGATCTAGAACAGAAAA TGAAAGTGGTAGAGAATCTCCAGGAT GACTTTGATTTCAACTATAAAACCCT CAAGAGTCAAGGAGACATGCAAGAT CTGAATGGAAACAACCAGTCAGTGAC CAGGCAGAAGATGCAGCAGCTGGAA CAGATGCTCACTGCGCTGGACCAGAT	1218

			GCGGAGAAGCATCGTGAGTGAGCTG GCGGGGCTTTTGTGTCAGCGATGGAGTA CGTGCAGAAAACCTCTCACAGACGAG GAGCTGGCTGACTGGAAGAGGCGGC AACAGATTGCCTGCATTGGAGGTCCG CCCAACATCTGCCTAGATCGGCTAGA AAACTGGATAACGTCATTAGCAGAAT CTCAACTTCAGACCCGTCAACAAATT AAGAACTGGAGGAGTTGCAGCAAA AAGTGTCTTACAAAGGGGACCCCAT GTACAGCACCGGCCGATGCTGGAGG AGAGAATCGTGGAGCTGTTCAGAAAC TTAATGAAAAGTGCCTTTGTGGTGG GCGGCAGCCCTGCATGCCCATGCATC CCGACCGGCCCTTGTGTCATCAAGACC GGCGTCCAGTTCACTACCAAAGTCAG GTTGCTGGTCAAATTCCCTGAGTTAA ATTATCAACTTAAAATTAAAGTGTGC ATTGACAAAGACTCTGGGGATGTTGC AGCTCTCAGAGGATCCCGGAAATTTA ACATTCTGGGCACAAACACCAAAGTG ATGAACATGGAAGAGTCCAACAACG GCAGCCTCTCTGCAGAATTCAAACAC TTGACCCTGAGGGAGCAGAGATGTGG GAATGGGGGCCGAGCCAATTGTGATG CTTCCCTGATTGTGACTGAGGAGCTG CACCTGATCACCTTTGAGACAGAGGT ATATACCAAGGCCTCAAGATTGACC TAGAGACCCACTCCTTGCCAGTTGTG GTGATCTCCAACATCTGTCAGATGCC AAATGCCTGGGCGTCCATCCTGTGGT ACAACATGCTGACCAACAACCCCAAG AACGTAACTTTTTTACCAAGCCCCC AATCGGAACCTGGGATCAAGTGGCCG AGGTCCTGAGCTGGCAGTTCTCCTCC ACCACCAAGCGAGGACTGAGCATCG AGCAGCTGACTACACTGGCGGAGAA ACTCTTGGGACCTGGCGTGAATTATT CAGGGTGTGAGATCACATGGGCTAAA TTTTGCAAAGAAAACATGGCTGGCAA GGGCTTCTCCTTCTGGGTCTGGCTGG ACAATATCATTGACCTTGTGAAAAAG TACATCCTGGCCCTTTGGAATGAAGG GTACATCATGGGCTTTATCAGTAAGG AGCGGGAGCGGGCCATCTTGAGCACC AAGCCTCCAGGCACCTTTCTGCTAAG ATTCAGTGAAAGCAGCAAAGAAGGC	
--	--	--	--	--

			GGCGTCACTTTCACTTGGGTGGAGAA GGACATCAGTGGTAAGACCCAGATCC AGTCCGTGGAACCATAACCAAGCAG CAGTTGAACAACATGTCATTTGCTGA AATCATCATGGGCTATAAGATCATGG ATGCTACCAATATTCTGGTGTCTCCG CTGGTCTATCTCTACCCTGACATTCCC AAGGAGGAGGCATTTCGAAAGTATT GTCGGCCAGAGAGCCAGGAGCATCCT GAAGCTGACCCAGGCGCCGCCCCATA CCTGAAGACCAAGTTTATCTGTGTGA CACCATTCAATTGATGCAGTTTGAAA TAATGGTGAAGGTGCTGAACCCTCAG CAGGAGGGCAGTTTGAGTCCCTCACC TTTGACATGGAGTTGACCTCGGAGTG TGCTACCTCCCCCATGTGAGGAGCTG AGAACGGAAGCTGCAAAAGATACGA CTGAGGCGCCTACCTGTGTTCCGCCA CCCCTCACACAGCCAAACCCAGATC ATCTGAAACTACTAACTTTGTGGTTC CAGATTTTTTTTAAATCTCCTACTTCTG CTATCTTTGAGCAATCTGGGCACTTTT AAAAATAAGAGAAATGAGTGAATGT GGGTGATCTGCTTTTATCTAAATGCA AATAAGGATGTGTTCTCTGAGACCCG TGATGGGGGGATGTGGCGGGGGGTG GCTAGAGGGAGAAAAAGGAAATGTC TTGTGTTGTTTTGTTCCCCTGCCCTCC TTTCTCAGCAGCTTTTTGTTATTGTTG TTGTTGTTCTTAGACAAGTGCCTCCTG GTGCCC GCGGCATCCTTCTGCCTGTTT CTGTAAGCAAATGCCACAGGCCACCT GTAGCTACATACTCCTGGCATTGCAC TTTTTAACCTTGCTGACATCCAAATA GAAGATAGGACTATCTGAGCCCTAGG TTTCTTTTTAAATTAAGAAATAAGAA CAATTAAAGGGCAAAAAACACTGTTT CAGCATAGCCTTTCTGTATTTAAGAA ACTTCAGCAGCCGGCCGCAGGGACTC ACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGA GGCCGAGGTGGGTGGATCATGAGGTT AGGAGATCAAGACTGTCCTGGCTAAC ATGGTGAAACCCCGTCTCTACTAACA GTACAAAAAATTAGCCGGGCGTGGTG GTGGGTGCCTGTAGTCCCAGCTACTC GGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCA TGAACCCAAGAGGCGGAGGTTGCAG	
--	--	--	--	--

			TGAGCCAAAATCACACCACTGCACTC CAACTCAGGCAACAGTGTGAGACTCC ATCTCAAAAAAAAAAAGAAAAGAAAA AGAACTTCAGTTAACAGCCTCCTTG GTGCTTTAAGCATTTCAGCTTCCTTCAG GTTGATAATTTATATAACCCCTGAAA CAGGCTTCAGGTCAAACCCTTAAAAG ACGTCTGAAGCTGCAGCCTGGCCTTT GATGTTGAAATAGGAAGGTTTAAGGA GAATCTAAGCATTTTAGACTTTTTTTT ATAAATAGACTTCTATTTTCCTTTGTA ATGTATTGGTCTTTTAGTGGGTAAAG CTGGGCAGAGGGTGCTTACAACCTTG ACTCCCTTTCTCCCTGGACTTGATCTG CTGTTTCAGAGGCTAGGTTGTTTCTGT GGGTGCCTTATCAGGGCTGGGATACT TCTGATTTGGGCTTCCTTCTTGCCCCA CCCTCCCGACCCAGTTCCCCTGACC CTGCTAGTGGCATGTCTCCTCCCATGT CTGAAGGTCCCTCGTCCTGTTTGTTTT AGGAATCCTGGTCTCAGGACCTCATG GAAGAAGAGGGGGAGAAAGTTACCA GTTGGATATGATGCAGACTATGGGGC CCCAGCGACGTGTCTGGTTGAGCTCA GGGAATATGGTTCTTAGCCCAGTTTC TTGGTGATTTCCAGCGGTCAGTTCAG GCAGGGCAAAGGCTTACTGATAAACT TGAGTCTGCCCTCGTATGAGGGTTAT AGCTGGCCTCCCTCTGAGGCTGGTGA CTCTTCCCTGCTGGGGCCCCACAGGT GAGACAGAACAGGTAGAGGGCCTCC CTGTCTGCCCCGCTTGGCCAGCTAGC TTGCCTCTCCTGTGCGTATGGGAACA CCTAGCACGTGCTGGGTGGGCTGCCT CTGACCCAGAGGCATGGCCGAATTTG GCGACTCAAACACCTTGCCTCAGC TGATCAGAGTTTCTGTGGAATTCTGA TTGTTAGATCAAATTAGCTGGCCTCT GAATTAAGTGGGAGAGGACCTTCTCT AAGATGAACCGGGTTCGCCCCAGTCC TCCTGCCTGGAGACAGTTGATGTGTC TTGCAGAGCTCTCGCTTCCCCAGCAA CACTCTTCAGTACATAATAAGCTTAA CTGATAAACAGAGAGAATATTTAGGA AGGTGAGTCTTGGGCTTACCATTGGG TTTAAATCATAGGGACCTCGGGAAAG GGTTCGGGCTTCTCTGGAGCAGATAT	
--	--	--	---	--

			TATGAAGTTCATGGCCTTAGGTAGCA TGTGTATCTGGTCTTAACTCTGATTGT AGCAAAAGTTCTGAGAGGAGCTGAG CCTTGTTCTGGCCCCTTAAAGAACAG GGTCCTCAGGCCCTGCCCGCTTCCTG TCCACTGCCCTCCTGCCCGTCCCCAG CCCAGCTGAGGGAATCCCGTGGGTTG CTTACCTACCTATAAGGTGGTTTATA AGCTGCTGTCCTGGCCACTGCATTCA AATTCCAATGTGTACTTCATAGTGTA AAAATTTATATTATTGTGGGGTTTTTT GTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGTAT ATTGCTGTATCTACTTTAACTTCCAGA AATAAACGTTATATAGGAACCGTC	
Directo 1			TTGTGTTTGTGCCCAGAATG	1219
Inverso 1			TCCCTGAGTTGAATTATCAGCTT	1220
Sonda 1			/56- FAM/ACGTCCCCA/ZEN/GAGTCTTTGT CAATGC/3IABkFQ/	1221
Directo 2			GATGATTTTCAGCAAATGACATGTTG	1222
Inverso 2			CAGTGAAAGCAGCAAAGAAGG	1223
Sonda 2			/56- FAM/AGGACATCA/ZEN/GCGGTAAGA CCCAGA/3IABkFQ/	1224
STAT3- 721	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O- mUs][fAs][fU][fA][fG][mU][fU][mG][mA] [fA][mA][mU][mC][fA][mA][mA][mG][m U][mC][mAs][mGs][mG]	1225
STAT3- 1286	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O- mUs][fUs][fA][fA][fU][mU][fU][mU][mA] [fA][mG][mC][mU][fG][mA][mU][mA][m A][mU][mUs][mGs][mG]	1226
STAT3- 1287	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O- mUs][fUs][fU][fA][fA][mU][fU][mU][mU] [fA][mA][mG][mC][fU][mG][mA][mU][m A][mA][mUs][mGs][mG]	1227
STAT3- 1388	22 mer modificado		[MeFosfonato-4O- mUs][fAs][fUs][fU][fC][mU][fU][mC][mC] [fA][mU][mG][mU][fU][mC][mA][mU][m	1228

			C][mA][mCs][mGs][mG]	
NM_213 659.3 Secuenci a de nucleóti dos de STAT3 de Mus musculu s			AATTATGCATGGAGGCGTGTCTTGGC CAGTGGCGGCTGGGTGGGGATTGGCT GGAGGGGCTGTAATTCAGCGGTTTCC GGAGCTGCAGTGTAGACAGGGAGGG GGAACCTGGGGTTCCGACGTCGCGGC GGAGGGAACGAGCCCTAACCGGATC GCTGAGGTACAACCCCGCTCGGTGTC GCCTGACCGCGTCGGCTAGGAGAGGC CAGGCGGCCCTCGGGAGCCCAGCAG CTCGCGCCTGGAGTCAGCGCAGGCCG GCCAGTCGGGCCTCAGCCCCGGAGAC AGTCGAGACCCCTGACTGCAGCAGGA TGGCTCAGTGGAACCAGCTGCAGCAG CTGGACACACGCTACCTGGAGCAGCT GCACCAGCTGTACAGCGACAGCTTCC CCATGGAGCTGCGGCAGTTCCTGGCA CCTTGGATTGAGAGTCAAGACTGGGC ATATGCAGCCAGCAAAGAGTCACATG CCACGTTGGTGTTTCATAATCTCTTGG GTGAAATTGACCAGCAATATAGCCGA TTCCTGCAAGAGTCCAATGTCCTCTA TCAGCACAACCTTCGAAGAATCAAGC AGTTTCTGCAGAGCAGGTATCTTGAG AAGCCAATGGAAATTGCCCGGATCGT GGCCCGATGCCTGTGGGAAGAGTCTC GCCTCCTCCAGACGGCAGCCACGGCA GCCCAGCAAGGGGGCCAGGCCAACC ACCCAACAGCCGCCGTAGTGACAGA GAAGCAGCAGATGTTGGAGCAGCAT CTTCAGGATGTCCGGAAGCGAGTGCA GGATCTAGAACAGAAAATGAAGGTG GTGGAGAACCTCCAGGACGACTTTGA TTTCAACTACAAAACCCTCAAGAGCC AAGGAGACATGCAGGATCTGAATGG AAACAACCAGTCTGTGACCAGACAG AAGATGCAGCAGCTGGAACAGATGC TCACAGCCCTGGACCAGATGCGGAGA AGCATTGTGAGTGAGCTGGCGGGGCT CTTGTCAGCAATGGAGTACGTGCAGA AGACACTGACTGATGAAGAGCTGGCT GACTGGAAGAGGCGGCAGCAGATCG CGTGCATCGGAGGCCCTCCCAACATC TGCCTGGACCGTCTGGAAAACCTGGAT AACTTCATTAGCAGAATCTCAACTTC AGACCCGCCAACAATTAAGAAACT	1229

			GGAGGAGCTGCAGCAGAAAGTGTCC TACAAGGGCGACCCTATCGTGCAGCA CCGGCCCATGCTGGAGGAGAGGATC GTGGAGCTGTTCAAGAACTTAATGAA GAGTGCCTTCGTGGTGGAGCGGCAGC CCTGCATGCCCATGCACCCGGACCGG CCCTTAGTCATCAAGACTGGTGTCCA GTTTACCACGAAAGTCAGGTTGCTGG TCAAATTCCTGAGTTGAATTATCAG CTTAAAATTAAAGTGTGCATTGATAA AGACTCTGGGGATGTTGCTGCCCTCA GAGGGTCTCGGAAATTTAACATTCTG GGCACGAACACAAAAGTGATGAACA TGGAGGAGTCTAACAACGGCAGCCTG TCTGCAGAGTTCAAGCACCTGACCCT TAGGGAGCAGAGATGTGGGAATGGA GGCCGTGCCAATTGTGATGCCTCCTT GATCGTGACTGAGGAGCTGCACCTGA TCACCTTCGAGACTGAGGTGTACCAC CAAGGCCTCAAGATTGACCTAGAGAC CCACTCCTTGCCAGTTGTGGTGATCTC CAACATCTGTCAGATGCCAAATGCTT GGGCATCAATCCTGTGGTATAACATG CTGACCAATAACCCCAAGAACGTGAA CTTCTTCACTAAGCCGCCAATTGGAA CCTGGGACCAAGTGGCCGAGGTGCTC AGCTGGCAGTTCTCGTCCACCACCAA GCGGGGGCTGAGCATCGAGCAGCTG ACAACGCTGGCTGAGAAGCTCCTAGG GCCTGGTGTGAACTACTCAGGGTGTC AGATCACATGGGCTAAATTCTGCAAA GAAAACATGGCTGGCAAGGGCTTCTC CTTCTGGGTCTGGCTAGACAATATCA TCGACCTTGTGAAAAAGTATATCTTG GCCCTTTGGAATGAAGGGTACATCAT GGGTTTCATCAGCAAGGAGCGGGAG CGGGCCATCCTAAGCACAAAGCCCCC GGGCACCTTCCTACTGCGCTTCAGCG AGAGCAGCAAAGAAGGAGGGGTAC TTTCACTTGGGTGGAAAAGGACATCA GTGGCAAGACCCAGATCCAGTCTGTA GAGCCATACACCAAGCAGCAGCTGA ACAACATGTCATTTGCTGAAATCATC ATGGGCTATAAGATCATGGATGCGAC CAACATCCTGGTGTCTCCACTTGTCTA CCTCTACCCCGACATTCCCAAGGAGG AGGCATTTGGAAAGTACTGTAGGCC	
--	--	--	---	--

			GAGAGCCAGGAGCACCCCGAAGCCG ACCCAGGTAGTGCTGCCCCGTACCTG AAGACCAAGTTCATCTGTGTGACACC AACGACCTGCAGCAATACCATTGACC TGCCGATGTCCCCCGCACTTTAGAT TCATTGATGCAGTTTGGAAATAACGG TGAAGGTGCTGAGCCCTCAGCAGGAG GGCAGTTTGAGTCGCTCACGTTTGAC ATGGATCTGACCTCGGAGTGTGCTAC CTCCCCCATGTGAGGAGCTGAAACCA GAAGCTGCAGAGACGTGACTTGAGA CACCTGCCCCGTGCTCCACCCCTAAG CAGCCGAACCCCATATCGTCTGAAAC TCCTAACTTTGTGGTTCCAGATTTTTT TTTTTAATTCCTACTTCTGCTATCTTT GGGCAATCTGGGCACTTTTTAAAATA GAGAAATGAGTGAGTGTGGGTGATA AACTGTTATGTAAAGAGGAGAGCACC TCTGAGTCTGGGGATGGGGCTGAGAG CAGAAGGGAGCAAGGGGAACACCTC CTGTCCTGCCCGCCTGCCCTCCTTTTT CAGCAGCTCGGGGTTGGTTGTTAGAC AAGTGCCTCCTGGTGCCCATGGCATC CTGTTGCCCCACTCTGTGAGCTGATA CCCCAGGCTGGGAACTCCTGGCTCTG CACTTTC AACCTTGCTAATATCCACAT AGAAGCTAGGACTAAGCCCAGAGGT TCCTCTTTAAATTAAAAAAAAAAAAAA ATAAGAATTAAAGGGCAAAACACAC TGACACAGCATAGCCTTTCCATATCA AGGAATACTCAGTTAACAGCCTCTCC AGCGCTGTCTTCAGGCTGATCATCTA TATAAACCCCTGGAATGGTTGCAGATC AAATCTGTAAAAGAGATCCGAGAGCT GTGGCTTGGCCTCTGGTTCAAACACA AAGGCTAGAGAGAACCTAGATATCCC TGGGTTTTGTTTACCCAGTATGCTTGT CGGTTGGAGGTGTGAGGTAGGCCAA GGGCACTGGAAAGCCTTTGTCATCAC CCTACTCCCTCCCCAACCCAGACTCC AGACCCTGTTTCAGGGTCAGCCTGCC CTGTGGGTGCCTTACTGGGCCTAGGG TCAACCTGCCTTCCTTTCCCACTTGAC CTTGCTGGTAGTATGTCCCCTTCCCAT GTCCAAAGGCCCTCTGTCCTGCTTCT ATTGGGAATCCCTGCCTCAGGACCTT GTGTCGAGAGGGATTGCCTTACAGGT	
--	--	--	--	--

			TTGAACCTGCCTCAGACTACAGGCC TCAGCAAAGCTCAGGGAGTATGGTCC TTATTCTATGCGCTTGGTTCCCAGGG ATATCTGTAACCACAGGGCAAAAGCT GACATATACTCCAGGTCTGCCCTCAT ATGAGTGGTGTATTCTTGGCCTCCCC GAGACTGGCAACTGTCTGCTCCCCAT TGGGTCTCCCAGGTGAGGTGGAACAC AGTTCCTGCACCTACTGTGGCCTCCA TGTCGCTTGCTTGCTTCGCTCACTCAG CTTACTGGAACACTGAGTGTTCAAGG CAAGCCTTTCCTGACAGAGGCATGGC TAGATTCAGTGA CTCAAAGCCACCTC ATTCAGCTGATCAGTGTCTGTGGAAT TGTTTCCTTCCAGTTAACCAGTGTCTG AATTAAGGGCAGTGAGGACATTGTCT CCAAGACGAACTGCTTGCCTTGACCA CCCCAGCCTTCTGCTTCGAGACAGTT ACTGCTCTCCCACCCCATCAATGTTCT TTAGTTATAACAATAAGCTGAACTTAT AAACTGAAAGGGTATTTAGGAAGGC AAGGCTTGGGCATTTTTATGGCTTTC AATCCTGGGGACCCAGGAACAAGGT GAGGGCTTCTCTGGGGCTGGTGTGT ACCTCAGGGGCTCTGGGAAGTCTGTG TGCCTGGGTTAACCAACCATAGTGAG CCCCTGGAAGTGGCCACTTTCCTCTC CTTGGCCCCACTTGGCCCCAGCCTCA CCCAGCCTGCAGACTGCTTAGCCTTT CAGTGCAGTGGCTTGTGTTCTGGCCA CTGCACTCAGATTCCAATGTAACTT TCTAGTGTA AAAATTTATATTATTGTG GGTTGTTTTTTGTTGTTGTTTGT TATATTGCTGTA ACTTTAACTTCC AGAAATAAAGATTATATAGGAAGTGT CTGGC	
--	--	--	---	--