

PROTEÍNAS Y CONJUGADOS DE UNIÓN AL RECEPTOR DE TRANSFERRINA

LISTADO DE SECUENCIAS

5 La presente solicitud se presenta junto con un
listado de secuencias en formato XML ST.26. El listado de
secuencias se proporciona como un archivo titulado
“30369_WO” creado el 18 de julio de 2023 y tiene un tamaño
de 667 kilobytes. La información del listado de secuencias
10 en el formato XML ST.26 se incorpora en la presente como
referencia en su totalidad.

ANTECEDENTES

15 La barrera hematoencefálica (BBB, por sus siglas
en inglés) es una barrera semipermeable selectiva de
células endoteliales capilares que impide el paso de
solutos, incluidos patógenos, al sistema nervioso central
(SNC, por sus siglas en inglés). La BBB permite el paso de
20 algunas moléculas pequeñas por difusión pasiva y las
células de la BBB transportan activamente productos
metabólicos cruciales para la función neural, tales como
la glucosa y los aminoácidos, a través de la barrera usando
proteínas de transporte específicas. La BBB tiene una
25 función neuroprotectora al controlar estrechamente el

acceso al cerebro; pero también impide el acceso de los agentes terapéuticos al CNS.

Se han descrito transportadores BBB para mejorar el paso de los agentes terapéuticos a través de la barrera hematoencefálica y hacia el SNC. Por ejemplo, WO2003/009815 describe el uso de anticuerpos dirigidos al receptor de transferrina ("TfR") para modular el transporte de barrera hematoencefálica. Sin embargo, los intentos de usar anticuerpos anti-TfR para transportar agentes terapéuticos a través de la BBB han demostrado ser un desafío. Hasta la fecha, no hay transportadores o conjugados de TfR aprobados para el tratamiento de enfermedades del SNC.

Por lo tanto, permanece la necesidad de proteínas y conjugados de unión a TfR que puedan suministrar agentes terapéuticos a través de la BBB en el SNC para el tratamiento de diversas enfermedades del SNC.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano ("proteínas de unión a TfR humanos"), proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente de ratón ("proteínas de unión a TfR de ratón"), conjugados que comprenden tales proteínas de unión a TfR humanos o de ratón, p. ej., conjugados de proteínas de unión

a TfR humano-ARNbc, composiciones farmacéuticas que comprenden proteínas o conjugados de unión a TfR humanos, y métodos para tratar enfermedades del SNC (p. ej., enfermedad neurodegenerativa, tal como sinucleinopatía o tauopatía neurodegenerativa) usando proteínas o conjugados de unión a TfR humano.

En un aspecto, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden uno y solo un dominio de unión a TfR monovalente humano (“proteínas de unión a TfR humanos”). En algunas modalidades, el dominio de unión de TfR humano monovalente comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), y la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano comprende una VH que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 seleccionadas de la Tabla 1, y/o una VL que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 seleccionadas de la Tabla 2. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano comprende una VH y/o una VL seleccionada de la Tabla 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende

regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, 5 LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 22, la LCDR1 comprende la sec. 10 con núm. de ident.: 23, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5, y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 24; o
- (b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de 15 ident.: 25, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 26, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

20 En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas 25 pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1,

LCDR2 y LCDR3, y en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

- 5 (a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;
- 10 (b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 7, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;
- 15 (c) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 8, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;
- 20 (d) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con
- 25

núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la
sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende
la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 12;

5 (e) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 14, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
10 sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18;

(f) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
15 núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18; o

(g) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
20 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 20, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
25 comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL,
5 y en donde la VH y VL comprenden las siguientes secuencias:

(a) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 27 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de
10 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 28;

(b) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 29 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de
15 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 28;

(c) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de
20 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 31;

(d) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 32 y la VL comprende
25

una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 33;

5 (e) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 34 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 35;

10 (f) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 36 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
15 de ident.: 37; o

(g) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 38 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
20 identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 37.

En algunas modalidades, en la presente
descripción se proporcionan proteínas que comprenden un
dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el
25 dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL,
y en donde la VH y VL comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
27 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 28;
- 5 (b) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
29 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 28;
- (c) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
30 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 31;
- 10 (d) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
32 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 33;
- (e) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
34 y la VL comprende la sec. con núm. de
15 ident.: 35;
- (f) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
36 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37; o
- (g) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
20 38 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37.

En algunas modalidades, el dominio de unión a
TfR monovalente humano es un fragmento de anticuerpo, p.
ej., Fab, scFv, Fv o scFab (Fab monocatenario). En algunas
25 modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano
es Fab. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR

humano comprende además una región constante de cadena pesada y/o una región constante de cadena ligera.

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden además un
5 extensor de vida media, p. ej., una región Fc de inmunoglobulina o un VHH que se une a albúmina sérica humana (HSA, por sus siglas en inglés).

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden uno o más
10 residuos de cisteína diseñados por ingeniería para la conjugación. En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden uno o más residuos de cisteína nativos para la conjugación.

En algunas modalidades, la proteína de unión a
15 TfR humano descrita en la presente es una cualquiera de las proteínas de unión a TfR humanos en la Tabla 6a y 6b. En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humano descrita en la presente tiene una cadena pesada (HC) y una cadena ligera (LC), p. ej., TBP1, TBP2, TBP3, TBP4, TBP5,
20 TBP6, TBP7, TBP8 o TBP9. En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humana tiene dos cadenas pesadas (HC1 y HC2) y dos cadenas ligeras (LC1 y LC2). En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humana descrita en la presente tiene un formato de anticuerpo heterodimérico,
25 p. ej., TBP10, TBP11, TBP12 o TBP13.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión del receptor de transferrina (TfR) humano monovalente, en donde el dominio de unión a TfR humano se une a un epítipo que comprende uno o más residuos en (a) 5 residuos 346-364 FGNMEGDCPSDWKTDSTCR (sec. con núm. de ident.: 119), (b) residuos 243-247 FEDLY (sec. con núm. de ident.: 162) y residuos 345-364 LFGNMEEGDCPSDWKTDSTCR) (sec. con núm. de ident.: 163), o (c) residuos 243-247 10 FEDLY (sec. con núm. de ident.: 162), residuos 259-263 AGKIT (sec. con núm. de ident.: 164) y residuos 532-538 (VEKLTLD) (sec. con núm. de ident.: 165), de TfR humana.

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión 15 a TfR monovalente de ratón (“proteínas de unión a TfR de ratón”). Estas proteínas de unión a TfR de ratón pueden servir como moléculas sustitutas a las proteínas de unión a TfR humanos en modelos de ratón. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que 20 comprenden un dominio de unión a TfR monovalente de ratón, en donde el dominio de unión a TfR de ratón comprende una VH y una VL, en donde una VH comprende las regiones determinantes de la complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones 25 determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la

sec. con núm. de ident.: 71, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 72, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 73, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 74, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 75 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 76. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente de ratón, en donde el dominio de unión a TfR de ratón comprende una VH que comprende la sec. con núm. de ident.: 77 y una VL que comprende la sec. con núm. de ident.: 78.

En la presente descripción también se proporcionan anticuerpos que comprenden una VH que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 seleccionadas de la Tabla 1, y/o una VL que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 seleccionadas de la Tabla 2. En algunas modalidades, tales anticuerpos comprenden una VH y/o una VL seleccionada de la Tabla 3.

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan conjugados que comprenden proteínas de unión a TfR humanos o de ratón descritas en la presente y un agente terapéutico. En algunas modalidades, el agente terapéutico se selecciona de un ARN bicatenario (p. ej., ARNip, ARNap), oligonucleótido (p. ej., oligonucleótido no codificante), péptido, molécula pequeña, nanopartícula, nanopartícula lipídica, exosoma, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, o una combinación de estos. En algunas

modalidades, el agente terapéutico es un ARN bicatenario (ARNbc). En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena no codificante es complementaria a un ARNm diana
5 seleccionado de SNCA, MAPT, APP, ATXN2, ATXN3, SARM1, APOE, BACE1, FMR1, LRRK2, HTT, SOD1, SCN10A, SCN9A o ARNm de CACNA1B. En algunas modalidades, la relación de agente terapéutico a proteína es de aproximadamente 1:1 a 3:1. En algunas modalidades, la relación de agente terapéutico a
10 proteína es de aproximadamente 1:1. En algunas modalidades, la relación de agente terapéutico a proteína es de aproximadamente 2:1. En algunas modalidades, la relación de agente terapéutico a proteína es de aproximadamente 3:1.

En algunas modalidades, el agente terapéutico se
15 une a la proteína de unión a TfR humana o de ratón a través de un enlazador. En algunas modalidades, el enlazador es un enlazador de Mal-Tet-TCO, enlazador de SMCC o enlazador de GDM (las estructuras de estos enlazadores se muestran en la Tabla 8).

20 En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): R-L-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un
25 dominio de unión a TfR monovalente humano o de ratón; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente. En

algunas modalidades, P es una proteína de unión a TfR humana o de ratón descrita en la presente. En algunas modalidades, la relación de R a P es de aproximadamente 1:1 a 3:1. En algunas modalidades, la relación de R a P es de aproximadamente 1:1. En algunas modalidades, la relación de R a P es de aproximadamente 2:1. En algunas modalidades, la relación de R a P es de aproximadamente 3:1.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano o de ratón; en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): R-L-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, en la presente descripción el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones

determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3 y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3,
5 LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 22, la LCDR1 comprende la sec.
10 con núm. de ident.: 23, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5, y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 24; o
- (b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
15 ident.: 25, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 26, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

20 En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): R-L-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un
25 dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, en donde el

dominio de unión a Tfr humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3 y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

(a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 7, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(c) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 8, la LCDR1 comprende la sec.

con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(d) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
5 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la
sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende
la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3
10 comprende la sec. con núm. de ident.: 12;

(e) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 14, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
15 con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18;

(f) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
20 ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18; o

(g) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
25 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de

ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 20, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
5 comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

En algunas modalidades, en la presente descripción
se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): R-L-P, en
donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una
cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P
10 es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR
monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está
opcionalmente ausente, en la presente descripción el dominio
de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena
pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en
15 donde la VH y VL comprenden las siguientes secuencias:

(a) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 27 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
20 identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 28;

(b) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 29 y la VL comprende
25 una secuencia que tiene al menos 95 % de

identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 28;

5 (c) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 30 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 31;

10 (d) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 32 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 33;

15 (e) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 34 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
20 de ident.: 35;

(f) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 36 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
25 identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 37; o

(g) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 38 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 37.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): R-L-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, en la presente descripción el dominio de unión a Tfr humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH y VL comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 27 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 28;
- (b) la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 29 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 28;
- (c) la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 31;

- (d) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
32 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 33;
- (e) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
5 34 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 35;
- (f) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
36 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37; o
- 10 (g) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
38 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37.

En algunas modalidades, en la presente
descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II):
15 $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que
comprende una cadena codificante y una cadena no
codificante; en donde P es una proteína que comprende un
dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es
un enlazador, o está opcionalmente ausente, en la presente
20 descripción el dominio de unión a TfR humano comprende una
región variable de cadena pesada (VH) y una región variable
de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones
determinantes de complementariedad de cadenas pesadas
HCDR1, HCDR2 y HCDR3 y la VL comprende las regiones
25 determinantes de complementariedad de cadenas ligeras

LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 22, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 23, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5, y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 24; o
- (b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 25, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 26, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 18, y en donde n es 1 a 3.

En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, en donde el

dominio de unión a Tfr humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3 y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

(a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 7, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(c) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 8, la LCDR1 comprende la sec.

con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

5 (d) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la
sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende
la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3
10 comprende la sec. con núm. de ident.: 12;

(e) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 14, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
15 con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18;

(f) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
20 ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18; o

25 (g) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de

ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 20, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
5 comprende la sec. con núm. de ident.: 18,
y en donde n es 1 a 3.

En algunas modalidades, n es 1. En algunas
modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción
10 se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): (R-L)n-P, en
donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una
cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P
es una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr
monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está
15 opcionalmente ausente, en donde el dominio de unión a Tfr
humano comprende una región variable de cadena pesada (VH)
y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH
y VL comprenden las siguientes secuencias:

(a) la VH comprende una secuencia que tiene al
20 menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 27 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 28;

25 (b) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la

sec. con núm. de ident.: 29 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 28;

5 (c) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 31;

10 (d) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 32 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 33;

15 (e) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 34 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 35;

20 (f) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 36 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de

identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 37; o

5 (g) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 38 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 37,
y en donde n es 1 a 3.

10 En algunas modalidades, n es 1. En algunas
modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción
se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en
donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una
15 cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P
es una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr
monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está
opcionalmente ausente, en donde el dominio de unión a Tfr
humano comprende una región variable de cadena pesada (VH)
20 y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH
y VL comprenden las siguientes secuencias:

(a) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
27 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 28;

- (b) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
29 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 28;
- (c) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
5 30 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 31;
- (d) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
32 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 33;
- 10 (e) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
34 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 35;
- (f) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
36 y la VL comprende la sec. con núm. de
15 ident.: 37; o
- (g) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
38 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37,
- y en donde n es 1 a 3.

20 En algunas modalidades, n es 1. En algunas
modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, el enlazador (L) es un
enlazador Mal-Tet-TCO, enlazador de SMCC o enlazador de
GDM (ver la Tabla 8).

25 En algunas modalidades, el ARN_{bc} comprende una
cadena no codificante complementaria a un ARN_m diana

seleccionado de SNCA, MAPT, APP, ATXN2, ATXN3, SARM1, APOE, BACE1, FMR1, LRRK2, HTT, SOD1, SCN10A, SCN9A o ARNm de CACNA1B. En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena no codificante complementaria al ARNm de SNCA. En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena no codificante complementaria al ARNm de MAPT.

Se proporcionan en la Tabla 9a secuencias de cadena codificante y cadena no codificante no modificadas ilustrativas de ARNbc que se dirigen al ARNm de SNCA humano. En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante de ARNbc comprenden un par de secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que consiste en:

- (a) la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 81, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 82;
- (b) la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 83, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 84;
- (c) la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 85, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 86;
- (d) la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 87, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 88;

(e) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 89 y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 90; y

(f) la cadena codificante comprende la sec. con
5 núm. de ident.: 91, y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 92;

(g) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 116 y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 82,

10 en donde opcionalmente uno o más nucleótidos de la
cadena codificante y la cadena no codificante son nucleótidos
modificados independientemente, y en donde opcionalmente uno
o más enlaces internucleotídicos de la cadena codificante y
la cadena no codificante son enlaces internucleotídicos
15 modificados. En algunas modalidades, la cadena codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 81 y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 82.

Se proporcionan en la Tabla 9b secuencias de
cadena codificante y cadena no codificante no modificadas
20 ilustrativas de ARNbc que se dirigen al ARNm de MAPT humano.
En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena
no codificante de ARNbc comprenden un par de secuencias de
ácido nucleico seleccionadas del grupo que consiste en:

(a) la cadena codificante comprende la sec. con
25 núm. de ident.: 120, y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 121;

(b) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 122, y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 123; y
(c) la cadena codificante comprende la sec. con
5 núm. de ident.: 124 y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 125,
en donde opcionalmente uno o más nucleótidos de la cadena
codificante y la cadena no codificante son nucleótidos
modificados independientemente, y en donde opcionalmente
10 uno o más enlaces internucleotídicos de la cadena
codificante y la cadena no codificante son enlaces
internucleotídicos modificados.

El ARN_{bc} puede incluir modificaciones. Las
modificaciones se pueden realizar en uno o más nucleótidos
15 de la cadena codificante y/o cadena no codificante o en los
enlaces internucleotídicos. En algunas modalidades, uno o
más nucleótidos de la cadena codificante y/o la cadena no
codificante son nucleótidos modificados independientemente,
lo que significa que la cadena codificante y la cadena no
20 codificante pueden tener diferentes nucleótidos modificados.
En algunas modalidades, cada nucleótido de la cadena
codificante es un nucleótido modificado. En algunas
modalidades, cada nucleótido de la cadena no codificante es
un nucleótido modificado. En algunas modalidades, el
25 nucleótido modificado es un nucleótido modificado con 2'-
fluoro, un nucleótido modificado con 2'-O-metilo o un

nucleótido modificado con 2'-O-alquilo. En algunas modalidades, cada nucleótido de la cadena codificante y la cadena no codificante es independientemente un nucleótido modificado, por ejemplo, un nucleótido modificado con 2'-fluoro, un nucleótido modificado con 2'-O-metilo o un nucleótido modificado con 2'-O-alquilo.

En algunas modalidades, la cadena codificante tiene cuatro nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 7, 9, 10, 11 desde el extremo 5' de la cadena codificante. En algunas modalidades, los otros nucleótidos de la cadena codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo. En algunas modalidades, la cadena no codificante tiene cuatro nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 2, 6, 14, 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante. En algunas modalidades, los otros nucleótidos de la cadena no codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

En algunas modalidades, la cadena codificante tiene tres nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 9, 10, 11 desde el extremo 5' de la cadena codificante. En algunas modalidades, los otros nucleótidos de la cadena codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo. En algunas modalidades, la cadena no codificante tiene cinco nucleótidos modificados con 2'-fluoro, p. ej., en las posiciones 2, 5, 7, 14, 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante. En algunas

modalidades, la cadena no codificante tiene cinco nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 2, 5, 8, 14, 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante. En algunas modalidades, la cadena no
5 codificante tiene cinco nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 2, 3, 7, 14, 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante. En algunas modalidades, los otros nucleótidos de la cadena no codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

10 En algunas modalidades, el extremo 5' de la cadena no codificante tiene un análogo de fosfato, por ejemplo, 5'-vinilfosfonato (5'-VP).

En algunas modalidades, la cadena codificante o la cadena no codificante comprende una porción abásica o
15 una porción abásica invertida.

En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante tienen uno o más enlaces internucleotídicos modificados. En algunas modalidades, el enlace internucleotídico modificado es un enlace
20 fosforotioato. En algunas modalidades, la cadena codificante tiene cuatro o cinco enlaces fosforotioato. En algunas modalidades, la cadena no codificante tiene cuatro o cinco enlaces fosforotioato. En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante tienen cada una cuatro
25 o cinco enlaces fosforotioato. En algunas modalidades, la

cadena codificante tiene cuatro enlaces fosforotioato y la cadena no codificante tiene cuatro enlaces fosforotioato.

Se proporcionan en la Tabla 11a secuencias de cadena codificante y cadena no codificante modificadas
5 ilustrativas de ARNbc que se dirigen al ARNm de SNCA humano. Se proporcionan en la Tabla 11b secuencias de cadena codificante y cadena no codificante modificadas ilustrativas de ARNbc que se dirigen al ARNm de MAPT humano.

En otro aspecto, en la presente descripción se
10 proporcionan métodos para tratar una enfermedad del SNC, p. ej., una enfermedad neurodegenerativa, en un paciente que lo necesita, y tal método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de la proteína o conjugado de unión a TfR humano o una composición farmacéutica
15 descrita en la presente.

En un aspecto adicional, en la presente descripción se proporcionan métodos para tratar una sinucleinopatía neurodegenerativa en un paciente que lo necesita, y tal método comprende administrar al paciente
20 una cantidad efectiva de la proteína o conjugado de unión a TfR humano o una composición farmacéutica descrita en la presente (p. ej., un conjugado de ARNip de TBP-SNCA descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende tal conjugado de ARNip de TBP-SNCA). En algunas
25 modalidades, la sinucleinopatía neurodegenerativa se selecciona de la enfermedad de Parkinson, enfermedad de

Alzheimer, atrofia multisistémica o demencia con cuerpos de Lewy. La proteína o conjugado de unión a TfR humano o una composición farmacéutica se puede administrar al paciente por vía intravenosa o subcutánea.

5 En un aspecto adicional, en la presente descripción se proporcionan métodos para tratar una tauopatía en un paciente que lo necesita, y tal método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de las proteínas o conjugado de unión a TfR humano o una composición
10 farmacéutica descrita en la presente (p. ej., un conjugado de ARNip de TBP-MAPT descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende tal conjugado de ARNip de TBP-MAPT). En algunas modalidades, la tauopatía se selecciona de la enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (FTD,
15 por sus siglas en inglés), demencia frontotemporal con parkinsonismo unido al cromosoma 17 (FTDP-17, por sus siglas en inglés), degeneración lobar frontotemporal (FTLD, por sus siglas en inglés), demencia frontotemporal variante conductual (bvFTD, por sus siglas en inglés), afasia
20 progresiva primaria variante no fluida (nfvPPA, por sus siglas en inglés), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick (PiD, por sus siglas en inglés), afasia progresiva primaria de variante semántica (PPA-S, por sus siglas en inglés), afasia progresiva primaria de variante logopénica
25 (PPA-L, por sus siglas en inglés), tauopatía multisistémica con demencia presenil (MSTD, por sus siglas en inglés),

demencia con ovillos neurofibrilares (NFT, por sus siglas en inglés), FTD con enfermedad de la motoneurona, parálisis supranuclear progresiva (PSP, por sus siglas en inglés), complejo de esclerosis lateral amiotrófica/parkinsonismo-
5 demencia (ALS-PDC, por sus siglas en inglés), demencia argirofílica granulosa (AGD, por sus siglas en inglés), angiopatía amiloide de tipo británico, angiopatía amiloide cerebral, encefalopatía traumática crónica (CTE, por sus siglas en inglés), degeneración corticobasal (CBD, por sus
10 siglas en inglés), enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD, por sus siglas en inglés), demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, epilepsia, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, enfermedad de Hallervorden-Spatz, enfermedad de Huntington,
15 miositis con cuerpos de inclusión, encefalopatía por plomo, enfermedad de Lytico-Bodig, meningioangiomatosis, atrofia multisistémica, distrofia miotónica, enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NP-C, por sus siglas en inglés), enfermedad de la motoneurona no guamaniana con ovillos neurofibrilares,
20 parkinsonismo postencefálico, angiopatía amiloide cerebral por proteína priónica, gliosis subcortical progresiva, demencia solo por ovillos, demencia con predominio de ovillos, ganglioglioma, gangliocitoma, encefalitis esclerosante subaguda, esclerosis tuberosa, lipofuscinosis,
25 tauopatía primaria relacionada con la edad (PART, por sus siglas en inglés) o tauopatías globulares gliales (GGT, por

sus siglas en inglés). La proteína o conjugado de unión a TfR humano o una composición farmacéutica se puede administrar al paciente por vía intravenosa o subcutánea.

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan proteínas o conjugados de unión a TfR humanos descritos en la presente o composiciones farmacéuticas que comprenden tales proteínas o conjugados de unión a TfR humanos para usar en una terapia. También se proporcionan en la presente descripción proteínas o conjugados de unión a TfR humanos descritos en la presente o composiciones farmacéuticas que comprenden tales proteínas o conjugados de unión a TfR humanos (p. ej., un conjugado de ARNip de TBP-SNCA descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende tal conjugado de ARNip de TBP-SNCA) para usar en el tratamiento de una sinucleinopatía neurodegenerativa, p. ej., la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, atrofia multisistémica o demencia de cuerpos de Lewy. También se proporcionan en la presente descripción proteínas o conjugados de unión a TfR humanos descritos en la presente o composiciones farmacéuticas que comprenden tales proteínas o conjugados de unión a TfR humanos (p. ej., un conjugado de ARNip de TBP-MAPT descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprenden tales conjugados de ARNip de TBP-MAPT) para usar en el tratamiento de una tauopatía, p. ej., p. ej., la enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (FTD), demencia frontotemporal con parkinsonismo unido al

cromosoma 17 (FTDP-17), degeneración lobar frontotemporal (FTLD), demencia frontotemporal variante conductual (bvFTD), afasia progresiva primaria variante no fluida (nfvPPA), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick (PiD), afasia
5 progresiva primaria de variante semántica (PPA-S), afasia progresiva primaria de variante logopénica (PPA-L), tauopatía multisistémica con demencia presenil (MSTD), demencia con ovillos neurofibrilares (NFT), FTD con enfermedad de la motoneurona, parálisis supranuclear progresiva (PSP),
10 complejo de esclerosis lateral amiotrófica/parkinsonismo-demencia (ALS-PDC), demencia argirofílica granulosa (AGD), angiopatía amiloide de tipo británico, angiopatía amiloide cerebral, encefalopatía traumática crónica (CTE), degeneración corticobasal (CBD), enfermedad de Creutzfeldt-
15 Jakob (CJD), demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, epilepsia, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, enfermedad de Hallervorden-Spatz, enfermedad de Huntington, miositis con cuerpos de inclusión, encefalopatía por plomo, enfermedad de
20 Lytico-Bodig, meningioangiomatosis, atrofia multisistémica, distrofia miotónica, enfermedad de Niemann-Pick de tipo C (NP-C), enfermedad de la motoneurona no guamaniana con ovillos neurofibrilares, parkinsonismo postencefalítico, angiopatía amiloide cerebral por proteína priónica, gliosis
25 subcortical progresiva, demencia solo por ovillos, demencia con predominio de ovillos, ganglioglioma, gangliocitoma,

encefalitis esclerosante subaguda, esclerosis tuberosa, lipofuscinosis, tauopatía primaria relacionada con la edad (PART) o tauopatías globulares gliales (GGT).

En otro aspecto, en la presente descripción se
5 proporcionan usos de proteínas o conjugados de unión a Tfr humanos descritos en la presente en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad del SNC, p. ej., una enfermedad neurodegenerativa. En algunas modalidades, la enfermedad neurodegenerativa es una sinucleinopatía
10 neurodegenerativa, p. ej., la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, atrofia de multisistémica o demencia de cuerpos de Lewy. En algunas modalidades, la enfermedad degenerativa es una tauopatía, p. ej., enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (FTD), demencia
15 frontotemporal con parkinsonismo unido al cromosoma 17 (FTDP-17), degeneración lobar frontotemporal (FTLD), demencia frontotemporal variante conductual (bvFTD), afasia progresiva primaria variante no fluida (nfvPPA), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick (PiD), afasia progresiva
20 primaria de variante semántica (PPA-S), afasia progresiva primaria de variante logopénica (PPA-L), tauopatía multisistémica con demencia presenil (MSTD), demencia con ovillos neurofibrilares (NFT), FTD con enfermedad de la motoneurona, parálisis supranuclear progresiva (PSP),
25 complejo de esclerosis lateral amiotrófica/parkinsonismo-demencia (ALS-PDC), demencia argirofílica granulosa (AGD),

angiopatía amiloide de tipo británico, angiopatía amiloide cerebral, encefalopatía traumática crónica (CTE), degeneración corticobasal (CBD), enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, epilepsia, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, enfermedad de Hallervorden-Spatz, enfermedad de Huntington, miositis con cuerpos de inclusión, encefalopatía por plomo, enfermedad de Lytico-Bodig, meningioangiomatosis, atrofia multisistémica, distrofia miotónica, enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NP-C), enfermedad de la motoneurona no guamaniana con ovillos neurofibrilares, parkinsonismo posencefalítico, angiopatía amiloide cerebral por proteína priónica, gliosis subcortical progresiva, demencia solo por ovillos, demencia con predominio de ovillos, ganglioglioma, gangliocitoma, encefalitis esclerosante subaguda, esclerosis tuberosa, lipofuscinosis, tauopatía primaria relacionada con la edad (PART) o tauopatías globulares gliales (GGT).

20

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **Figura 1A** muestra un cromatograma de intercambio aniónico analítico (aAEX, por sus siglas en inglés) ilustrativo del perfil de DAR para el conjugado TBP11-ARNbc antes de la purificación. La **Figura 1B** muestra un cromatograma de aAEX ilustrativo del perfil DAR para el

conjugado TBP14-ARNbc después de la purificación. La **Figura 1C** muestra un cromatograma de aAEX ilustrativo del perfil DAR para el conjugado de TBP15-ARNbc antes de la purificación. La **Figura 1D** muestra un cromatograma de aAEX
5 ilustrativo del perfil DAR para el conjugado de TBP15-ARNbc después de la purificación. La **Figura 1E** muestra diagramas ilustrativos de conjugados de TBP-ARNbc de DAR2 (arriba) o DAR1 (abajo).

La **Figura 2** muestra la unión, internalización y
10 degradación *in vitro* de las moléculas indicadas en neuronas corticales de ratón.

La **Figura 3** muestra la potencia *in vitro* de las moléculas indicadas para inactivar la SNCA de ratón en neuronas corticales primarias de ratón.

15 La **Figura 4** muestra la unión, internalización y evaluación de la degradación *in vitro* de las moléculas indicadas en células SHSY5Y.

La **Figura 5** muestra la potencia *in vitro* de las moléculas indicadas para inactivar la SNCA humana en
20 células SH-SY5Y.

Las **Figuras 6A, 6B y 6C** muestran datos de prueba de concepto de ratón que demuestran la eficacia farmacodinámica del conjugado de ARNip de mTBP-SNCA con múltiples dosis intravenosas (IV) en un solo punto temporal
25 (28 días), que muestra la reducción de proteína y ARNm de SNCA en el cerebro de ratón (Figura 6A) y reducción del

ARNm de SNCA en la médula espinal (Figura 6B) y los ganglios de la raíz dorsal lumbar (Figura 6C).

Las **Figuras 7A y 7B** muestran los datos de evolución temporal de la eficacia farmacodinámica de la prueba de concepto de ratón del conjugado de ARNip de mTBP2-SNCA después de una dosis IV única con ratones sacrificados en múltiples puntos temporales después de la dosis (7 días, 28 días, 70 días y 120 días), que muestran la farmacodinámica curso temporal de la reducción de proteínas y ARNm de SNCA en el cerebro de ratón (Figura 7A) y reducción de proteínas y ARNm de SNCA en la médula espinal (Figura 7B). Las barras de error en las Figuras 7A y 7B son desviaciones estándar y el análisis estadístico se realizó con un Anova unidireccional con la prueba de comparación múltiple de Dunnett contra el grupo de control de PBS. Las anotaciones indican valores $P > 0,0001=****$; $>0,001=***$; $>0,01=**$; $>0,05=*$.

La **Figura 8A** muestra la reducción del ARNm de SNCA en tejidos de mono Cynomolgus 29 días después de dos dosis periféricas IV únicas sucesivas (administradas con dos horas de diferencia) de ARNip de TBP10-SNCA (ARNbc núm. 8 en la Tabla 11a) conjugado a 4,4 mg/kg de ARNip. La **Figura 8B** muestra la reducción del ARNm de SNCA en tejidos de mono Cynomolgus 29 días después de dos dosis periféricas IV únicas sucesivas (administradas con dos horas de diferencia) de ARNip de TBP11-SNCA (ARNbc núm. 8 en la Tabla 11a) conjugado

a 1,3 mg/kg de ARNip. Las barras de error en las Figuras 8A y 8B son el error estándar de la media y el análisis estadístico se realizó con un Anova unidireccional con la prueba de comparación múltiple de Dunnett contra el grupo de control de PBS. Las anotaciones indican valores $P > 0,0001$ a $0,05 = *$. La **Figura 8C** muestra la comparación de la eficacia en el cerebro de ratón de conjugados de proteína de unión a TfR de ratón a dosis de ARNip equivalentes a NHP ajustadas al peso corporal. Las barras de error en la Figura 8C son desviaciones estándar y el análisis estadístico se realizó con un Anova unidireccional con la prueba de comparación múltiple de Dunnett contra el grupo de control de PBS. Las anotaciones indican valores $P > 0,0001=****$; $>0,001=***$; $>0,01=**$; $>0,05=*$.

La **Figura 9A** muestra la reducción del ARNm de SNCA en tejidos de mono Cynomolgus después de tres meses de administración intravenosa (IV) periférica mensuales de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado a 10 mg/kg de ARNip. La **Figura 9B** muestra la reducción de la α proteína sinucleína en tejidos de mono Cynomolgus después de tres administraciones IV periféricas mensuales de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado a 10 mg/kg de ARNip. La **Figura 9C** muestra la reducción del ARNm de SNCA en los tejidos de mono Cynomolgus 85 días después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla

11a) conjugado a 10 mg/kg de ARNip. La **Figura 9D** muestra la reducción de la α proteína sinucleína en tejidos de mono Cynomolgus 85 días después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado a 10 mg/kg de ARNip. La **Figura 9E** muestra la reducción del ARNm de SNCA en el músculo gastrocnemio después de una o tres administraciones IV periféricas mensuales sucesivas de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado a 10 mg/kg de ARNip.

La **Figura 10A** muestra la reducción del ARNm de MAPT en tejidos de mono Cynomolgus después de tres administraciones IV periféricas mensuales de ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 38 en la Tabla 11b) conjugado a 10 mg/kg de ARNip. La **Figura 10B** muestra la reducción de la proteína Tau en tejidos de mono Cynomolgus después de tres administraciones IV periféricas mensuales de ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 38 en la Tabla 11b) conjugado a 10 mg/kg de ARNip.

La **Figura 11A** muestra la reducción del ARNm de MAPT en tejidos de mono Cynomolgus después de tres administraciones IV periféricas mensuales de ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 39 en la Tabla 11b) conjugado a 10 mg/kg. La **Figura 11B** muestra la reducción de la proteína Tau en tejidos de mono Cynomolgus después de tres administraciones IV periféricas mensuales de ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 39 en la Tabla 11b) conjugado a 10 mg/kg de ARNip.

La **Figura 12A** muestra la reducción del ARNm de MAPT en tejidos de mono Cynomolgus después de tres administraciones IV periféricas mensuales de ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 40 en la Tabla 11b) conjugado a 10 mg/kg de ARNip. La **Figura 12B** muestra la reducción de la proteína Tau en tejidos de mono Cynomolgus después de tres administraciones IV periféricas mensuales de ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 40 en la Tabla 11b) conjugado a 10 mg/kg de ARNip.

La **Figura 13A** muestra las reducciones de ARNm de SNCA en tejidos de mono Cynomolgus un mes después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP16-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) a 1 mg/kg de ARNip. Las **Figuras 13B y 13C** muestran las reducciones de ARNm de SNCA en tejidos de cerebro de mono Cynomolgus seleccionados un mes después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP15-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) a 1 mg/kg (13B) y 10 mg/kg (13C) de ARNip. La **Figura 13D** muestra la farmacocinética (PK, por sus siglas en inglés) plasmática del ARNip asociado al conjugado después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR2) a 10 mg/kg de ARNip o de ARNip de TBP15-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) a 10 mg/kg o 1 mg/kg de ARNip. La **Figura 13E** muestra las concentraciones de ARNip totales en tejidos de cerebro

de mono *Cynomolgus* seleccionados en el día 29 después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP15-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) a 1 o 10 mg/kg de ARNip.

5 La **Figura 14A** muestra la PK plasmática del ARNip asociado al conjugado en ratones transgénicos TfR humanos después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR2) o de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) 10 conjugado (DAR1) a 10 mg/kg de ARNip. La **Figura 14B** muestra concentraciones de tejido cerebral del ARNip no codificante total a las 24 horas en ratones transgénicos TfR humanos después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR2) 15 o de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) en dosis variables. La **Figura 14C** muestra concentraciones de tejido cerebral del ARNip total en ratones transgénicos TfR humanos 24 horas después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc 20 núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR2) o de ARNip de TBP15-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) en dosis variables de ARNip. La **Figura 14D** muestra la reducción en los niveles de ARNm de SNCA en los homogeneizados cerebrales totales el día 28 en ratones transgénicos TfR 25 humanos después de una única administración IV periférica de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado

(DAR2) o de ARNip de TBP15-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) en dosis variables de ARNip. Las barras de error son desviaciones estándar y el análisis estadístico se realizó con un Anova unidireccional con la prueba de comparación múltiple de Dunnett contra el grupo de control de PBS. Las anotaciones indican valores $P > 0,0001=****$; $>0,001=***$; $>0,01=**$; $>0,05=*$. La **Figura 14E** muestra reducciones en los niveles de ARNm de SNCA en los homogeneizados cerebrales totales el día 28 en ratones transgénicos TfR humanos después de una única administración subcutánea del conjugado de ARNip de TBP15-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) (DAR1) en dosis variables de ARNip. Las barras de error son desviaciones estándar y el análisis estadístico se realizó con un Anova unidireccional con la prueba de comparación múltiple de Dunnett contra el grupo de control de PBS. Las anotaciones indican valores $P > 0,0001=****$; $>0,001=***$; $>0,01=**$; $>0,05=*$.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

En la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano (“proteínas de unión a TfR humanos”), proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente de ratón (“proteínas de unión a TfR de ratón”), conjugados que comprenden tales proteínas de unión a TfR humanos o de ratón, p. ej., conjugados de proteínas de unión a TfR humano-ARNbc, composiciones farmacéuticas que comprenden proteínas o conjugados de unión a TfR humanos, y métodos para tratar enfermedades del SNC (p. ej., enfermedad neurodegenerativa, tal como sinucleinopatía o tauopatía neurodegenerativa) usando proteínas o conjugados de unión a TfR humano.

Proteínas de unión a TfR humano

En un aspecto, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano (“proteínas de unión a TfR humanos”). En algunas modalidades, el dominio de unión de TfR humano monovalente comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), y la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas

ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano comprende una VH que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 seleccionadas de la Tabla 1. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano comprende una VL que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 seleccionadas de la Tabla 2. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano comprende una VH que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 seleccionadas de la Tabla 1, y/o una VL que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 seleccionadas de la Tabla 2. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano comprende una VH y/o una VL seleccionada de la Tabla 3. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano ("TBD", por sus siglas en inglés) es TBD1, TBD2, TBD3, TBD4, TBD5, TBD6, TBD6, TBD7, TBD8 o TBD9. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano es TBD1, TBD2, TBD3, TBD4, TBD5, TBD6, TBD6 o TBD7. En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente también se unen a TfR de mono Cynomolgus.

20 Tabla 1. Secuencias ilustrativas de CDR de cadena pesada del dominio de unión a TfR humano

Dominio de unión a TfR (TBD) humano	HCDR1 (KABAT)	HCDR2 (KABAT)	HCDR3 (KABAT)
TBD1	SYSMN (sec. con núm. de ident.: 1)	SISRSSSYIYYADSVKG (sec. con núm. de ident.: 2)	EHGYSNSDAFDI (sec. con núm. de ident.: 3)

TBD2	SYSMN (sec. con núm. de ident.: 1)	SISRSSSYIYYADSVKG (sec. con núm. de ident.: 2)	IHGYSNSDAFDK (sec. con núm. de ident.: 7)
TBD3	SYSMN (sec. con núm. de ident.: 1)	SISRSSSYIYYADSVKG (sec. con núm. de ident.: 2)	IHGYSNSDAFDI (sec. con núm. de ident.: 8)
TBD4	SYSMN (sec. con núm. de ident.: 1)	SISSSSSYIYYADSVKG (sec. con núm. de ident.: 10)	RHGYSNSDAFDN (sec. con núm. de ident.: 11)
TBD5	TYWMH (sec. con núm. de ident.: 13)	RINGDGSRTNYADSVKG (sec. con núm. de ident.: 14)	SSYAFDV (sec. con núm. de ident.: 15)
TBD6	TYWMH (sec. con núm. de ident.: 13)	RINSDGSRTNYADSVKG (sec. con núm. de ident.: 19)	SSYAFDV (sec. con núm. de ident.: 15)
TBD7	TYWMH (sec. con núm. de ident.: 13)	RINSDGSRTNYADSVKG (sec. con núm. de ident.: 19)	SSYAFHV (sec. con núm. de ident.: 20)
TBD8 (consenso de TBD1-4)	SYSMN (sec. con núm. de ident.: 1)	SISX _{aa1} SSSYIYYADSVKG, en donde X _{aa1} = R o S (sec. con núm. de ident.: 21)	X _{aa1} HGYSNSDAFD X _{aa2} , en donde X _{aa1} = E, I o R; X _{aa2} = I, K o N (sec. con núm. de ident.: 22)
TBD9 (consenso de TBD5-7)	TYWMH (sec. con núm. de ident.: 13)	RINX _{aa1} DGSRTNYADSVKG, en donde X _{aa1} = G o S (sec. con núm. de ident.: 25)	SSYAF X _{aa1} V, en donde X _{aa1} = D o H (sec. con núm. de ident.: 26)

Tabla 2. Secuencias ilustrativas de CDR de cadena ligera del dominio de unión a Tfr humano

Dominio de unión a Tfr (TBD) humano	LCDR1 (KABAT)	LCDR2 (KABAT)	LCDR3 (KABAT)
TBD1	RASQGISNYLA (sec. con núm. de ident.: 4)	AASSLQS (sec. con núm. de ident.: 5)	LQHNSYPRT (sec. con núm. de ident.: 6)
TBD2	RASQGISNYLA (sec. con núm. de ident.: 4)	AASSLQS (sec. con núm. de ident.: 5)	LQHNSYPRT (sec. con núm. de ident.: 6)
TBD3	RASQGISHYLV (sec. con núm. de ident.: 9)	AASSLQS (sec. con núm. de ident.: 5)	LQHNSYPRT (sec. con núm. de ident.: 6)
TBD4	RASQGISHYLV (sec. con núm. de ident.: 9)	AASSLQS (sec. con núm. de ident.: 5)	LQHNSYPWT (sec. con núm. de ident.: 12)

TBD5	RSSQSLLDSDDGSTYLD (sec. con núm. de ident.: 16)	LLSNRAS (sec. con núm. de ident.: 17)	MQRIEFPLT (sec. con núm. de ident.: 18)
TBD6	RSSQSLLDSDDGSTYLD (sec. con núm. de ident.: 16)	LLSNRAS (sec. con núm. de ident.: 17)	MQRIEFPLT (sec. con núm. de ident.: 18)
TBD7	RSSQSLLDSDDGSTYLD (sec. con núm. de ident.: 16)	LLSNRAS (sec. con núm. de ident.: 17)	MQRIEFPLT (sec. con núm. de ident.: 18)
TBD8 (consenso de TBD1-4)	RASQGIS $X_{aa1}YL X_{aa2}$, en donde $X_{aa1} = N$ o H ; $X_{aa2} = A$ o V (sec. con núm. de ident.: 23)	AASSLQS (sec. con núm. de ident.: 5)	LQHNSYP $X_{aa1}T$, en donde $X_{aa1} = R$ o W (sec. con núm. de ident.: 24)
TBD9 (consenso de TBD5-7)	RSSQSLLDSDDGSTYLD (sec. con núm. de ident.: 16)	LLSNRAS (sec. con núm. de ident.: 17)	MQRIEFPLT (sec. con núm. de ident.: 18)

Tabla 3. Secuencias ilustrativas de dominio de unión a
TfR humano VH y VL

Dominio de unión a TfR (TBD) humano	VH	VL
TBD1	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASG FTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSIS RSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCAREHGYSN SDAFDIWGQGTLLTVSS (sec. con núm. de ident.: 27)	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRAS QGISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL QPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKV EIK (sec. con núm. de ident.: 28)
TBD2	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASG FTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSIS RSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSN SDAFDKWGQGTLLTVSS (sec. con núm. de ident.: 29)	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRAS QGISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL QPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKV EIK (sec. con núm. de ident.: 28)
TBD3	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASG FTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSIS RSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSN SDAFDIWGQGTLLTVSS (sec. con núm. de ident.: 30)	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRAS QGISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL QPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKV EIK (sec. con núm. de ident.: 31)

TBD4	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASG FTFSSYSMNWVRQAPGKLEWVSSIS SSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSN SDAFDNWGQGLTVTVSS (sec. con núm. de ident.: 32)	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRAS QGISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL QPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKV EIK (sec. con núm. de ident.: 33)
TBD5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFRTYWMHWVRQAPGKLLWVSRIN GDGSRTNYADSVKGRFTISRDNKKT LYLQMNSLRAEDTAVYFCARSSYAFD VWGQGTMTVTVSS (sec. con núm. de ident.: 34)	DVVMQTPLSLPVTPGEPASISCRSS QSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQL LIYLLSNRASGVPDFRFSGSGSGTVFT LKISSVEAADVGVIYCMQRIEFPLTF GGGTKVEIK (sec. con núm. de ident.: 35)
TBD6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFRTYWMHWVRQAPGKLVWVSRIN SDGSRTNYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFD VWGQGLTVTVSS (sec. con núm. de ident.: 36)	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSS QSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQL LIYLLSNRASGVPDFRFSGSGSGTDF LKISRVEAEDVGVYCMQRIEFPLTF GGGTKVEIK (sec. con núm. de ident.: 37)
TBD7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFRTYWMHWVRQAPGKLVWVSRIN SDGSRTNYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFH VWGQGLTVTVSS (sec. con núm. de ident.: 38)	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSS QSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQL LIYLLSNRASGVPDFRFSGSGSGTDF LKISRVEAEDVGVYCMQRIEFPLTF GGGTKVEIK (sec. con núm. de ident.: 37)

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 22, la LCDR1 comprende la sec.

con núm. de ident.: 23, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 5, y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 24; o

(b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
5 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 25, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 26, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
10 comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

En algunas modalidades, en la presente descripción
se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión
a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR
humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende
15 regiones determinantes de complementariedad de cadenas
pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones
determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1,
LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm.
de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.:
20 21, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 22, la
LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 23, la LCDR2
comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende
la sec. con núm. de ident.: 24. En algunas modalidades, en
la presente descripción se proporcionan proteínas que
25 comprenden un dominio de unión (TfR) al receptor de
transferrina humana monovalente, en donde el dominio de unión

a TfR humana comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 25, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 26, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 17, y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

(a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

- (b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 7, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;
- (c) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 8, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;
- (d) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 12;
- (e) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 14, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la

sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18;

(f) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
5 ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18; o

10 (g) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 20, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
15 sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

En algunas modalidades, en la presente descripción
se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión
a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR
20 humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende
regiones determinantes de complementariedad de cadenas
pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones
determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1,
LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm.
25 de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.:
2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1

comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 7, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 8, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec.

con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 12. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 14, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 comprende la sec. con núm.

de ident.: 18. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 18. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporciona un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 20, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL,
5 y en donde la VH y VL comprenden las siguientes secuencias:

(a) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 27 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de
10 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 28;

(b) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 29 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de
15 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 28;

(c) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de
20 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 31;

(d) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 32 y la VL comprende
25

una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 33;

5 (e) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 34 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 35;

10 (f) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 36 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
15 de ident.: 37; o

(g) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 38 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
20 identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 37.

En algunas modalidades, en la presente
descripción se proporcionan proteínas que comprenden un
dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el
25 dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL,
y en donde la VH y VL comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
27 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 28;
- (b) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
5 29 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 28;
- (c) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
30 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 31;
- 10 (d) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
32 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 33;
- (e) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
34 y la VL comprende la sec. con núm. de
15 ident.: 35;
- (f) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
36 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37; o
- (g) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
20 38 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37.

En algunas modalidades, en la presente descripción
se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión
a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR
25 humano comprende una VH y una VL, y en donde la VH comprende
la sec. con núm. de ident.: 27 y la VL comprende la sec. con

núm. de ident.: 28. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, y en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 29 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 28. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, y en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 31. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, y en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 32 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 33. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, y en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 34 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 35. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, y

en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 36 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 37. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una VH y una VL, y en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 38 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 37.

En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano es un fragmento de anticuerpo, p. ej., Fab, scFv, Fv o scFab (Fab monocatenario). En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano es Fab. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR humano comprende además una región constante de cadena pesada y/o una región constante de cadena ligera.

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden además un extensor de vida media, p. ej., una región Fc de inmunoglobulina o un VHH que se une a albúmina sérica humana (HSA, por sus siglas en inglés).

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden además una región Fc de inmunoglobulina, p. ej., una región Fc de IgG4 humana modificada, o una región Fc de IgG1 humana modificada. En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden además una región Fc de

IgG4 humana modificada que comprende prolina en el residuo 228 y alanina en los residuos 234 y 235 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la numeración del índice EU, también denominado región Fc de hIgG4PAA). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden además una región Fc de IgG1 humana modificada que comprende alanina en los residuos 234, 235 y 329, serina en la posición 265, ácido aspártico en la posición 436 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la numeración del índice EU, también denominado región Fc de hIgG1 efectora nula o hIgG1EN). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región Fc de IgG1 o IgG4 humana modificada, en donde la región Fc comprende un primer dominio CH3 de Fc que comprende una serina en la posición 349, una metionina en la posición 366, una tirosina en la posición 370 y una valina en la posición 409; y un segundo dominio CH3 de Fc que comprende una glicina en la posición 356, un ácido aspártico en la posición 357, una glutamina en la posición 364 y una alanina en la posición 407 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región Fc de IgG1 o IgG4 humana modificada que comprende un primer dominio CH3 de Fc que comprende leucina en el residuo 405 y un segundo dominio CH3 de Fc que

comprende arginina en el residuo 409 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la numeración del índice EU).

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden además un VHH que se une a HSA humana. En algunas modalidades, el VHH también une albúmina de ratón, rata y/o mono Cynomolgus. Un VHH ilustrativo que se une a HSA humana se muestra en la Tabla 4. En algunas modalidades, tal VHH comprende la CDR1 que comprende la sec. con núm. de ident.: 39, la CDR2 que comprende la sec. con núm. de ident.: 40, y la CDR3 que comprende la sec. con núm. de ident.: 41. En algunas modalidades, tal VHH comprende la sec. con núm. de ident.: 42. En algunas modalidades, el VHH se enlaza al dominio de unión a TfR a través de un enlazador peptídico, p. ej., (GGGGQ)₄ (sec. con núm. de ident.: 70).

Tabla 4. Secuencias ilustrativas de VHH que se une a albúmina sérica humana (HSA)

Región	Secuencia	Sec. con núm. de ident.
CDR1 (KABAT)	ETAVA	39
CDR2 (KABAT)	GIGGGVDITYYADSVKG	40
CDR3 (KABAT)	RPGRPLITSKVADLPY	41
VHH de larga duración	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRYIDETAVAWFRQA PGKGREFVAGIGGGVDITYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRPEDTAVYYCGARPGRPLITSKVADLPYWGQGT LVTVSSPP	42
Enlazador opcional	GGGGQGGGGQGGGGQGGGGQ	70

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente son anticuerpos heterodiméricos que comprenden un primer brazo que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano y un segundo brazo que es un brazo nulo, p. ej., un brazo que no se une a ninguna diana humana conocida (p. ej., un brazo de isotipo). Se han descrito anticuerpos heterodiméricos, tales como heteromab, orthomab o duobody en WO2014150973, WO2016118742, WO2018118616, WO2011131746.

En algunas modalidades, el primer brazo comprende uno cualquiera de los dominios de unión a TfR humanos monovalentes descritos en la presente. En algunas modalidades, el segundo brazo es un brazo nulo que no se une a ninguna diana humana conocida (p. ej., un brazo de isotipo) que comprende las secuencias de la Tabla 5. En algunas modalidades, el segundo brazo comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 43, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 44, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 45, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 46, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 47 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 48. En algunas

modalidades, el segundo brazo comprende una VH y una VL, en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 49 y una VL comprende la sec. con núm. de ident.: 50. En algunas modalidades, el segundo brazo comprende una cadena pesada (HC) y una cadena ligera (LC), en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 51 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 52.

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden mutaciones heterodiméricas. En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región Fc modificada que comprende un primer dominio CH3 de Fc que comprende serina en el residuo 349, metionina en el residuo 366, tirosina en el residuo 370 y valina en el residuo 409, y un segundo dominio CH3 de Fc que comprende glicina en el residuo 356, ácido aspártico en el residuo 357, glutamina en el residuo 364 y alanina en el residuo 407 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región Fc modificada que comprende un primer dominio CH3 de Fc que comprende leucina en el residuo 405 y un segundo dominio CH3 de Fc que comprende arginina en el residuo 409 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la numeración del índice EU).

Tabla 5. Secuencias ilustrativas de un brazo de isotipo o brazo nulo que no se une a ninguna diana conocida (isotipo Ab)

Región	Secuencia	Sec. con núm. de ident.
HCDR1 (KABAT)	SYAIE	43
HCDR2 (KABAT)	GILPGSGTINYNEKFKG	44
HCDR3 (KABAT)	MSSNSDQGFDL	45
LCDR1 (KABAT)	KASQGISRFLS	46
LCDR2 (KABAT)	AVSSLVD	47
LCDR3 (KABAT)	VQYNSYPYG	48
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSSYAIEWVRQAP GQGLEWMGGILPGSGTINYNEKFGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSED TAVYYCARMSSNSDQGFDLWGQGT LVT VSS	49
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQGISRFLSWFQQKP GKAPKSLIYAVSSLVDGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPE EDFATYYCVQYNSYPYGFGGGKVEIK	50
HC (hIgG4PAA)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSSYAIEWVRQAP GQGLEWMGGILPGSGTINYNEKFGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSED TAVYYCARMSSNSDQGFDLWGQGT LVT VSSAST KGPXVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSG ALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLVHQLDNLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKL TVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG, en donde X es S o C.	51
LC (kappa humana)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQGISRFLSWFQQKPG KAPKSLIYAVSSLVDGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCVQYNSYPYGFGGGKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDE QLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	52

5

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden uno o más residuos de cisteína nativos, que se pueden usar para la conjugación. Por ejemplo, en algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humano descrita en la presente comprende una cisteína nativa en la posición 220 de la cadena

ligera y/o una cisteína nativa en la posición 226 de la cadena pesada, que se puede usar para la conjugación (todos los residuos de acuerdo con la numeración del índice EU).

En algunas modalidades, las proteínas de unión a
5 TfR humanos descritas en la presente comprenden residuos de cisteína diseñadas por ingeniería para la conjugación. El enfoque de incluir cisteínas diseñadas por ingeniería como medio para la conjugación se ha descrito en WO 2018/232088. En algunas modalidades, las proteínas de unión
10 a TfR humanos descritas en la presente comprenden una cadena pesada que comprende una o más cisteínas en los siguientes residuos: 124, 157, 162, 262, 373, 375, 378, 397, 415 (todos los residuos de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos
15 descritas en la presente comprenden una cadena ligera (p. ej., una cadena ligera kappa) que comprende una o más cisteínas en los siguientes residuos: 156, 171, 191, 193, 202, 208 (todos los residuos de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de
20 unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región constante de cadena pesada que comprende cisteína en el residuo 124 (de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región
25 constante de cadena ligera que comprende cisteína en el residuo 156 (de acuerdo con la numeración del índice EU).

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región Fc de inmunoglobulina que comprende cisteína en el residuo 378 (de acuerdo con la numeración del índice EU).

5 En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humano descrita en la presente es una cualquiera de las proteínas de unión a TfR humanos en la Tabla 6a y 6b. En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humano descrita en la presente tiene una cadena pesada (HC) y una
10 cadena ligera (LC), p. ej., TBP1, TBP2, TBP3, TBP4, TBP5, TBP6, TBP7, TBP8 o TBP9 (ver la Tabla 6a).

 En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humano descrita en la presente tiene un formato Fab-Fc, p. ej., TBP1, TBP2, TBP3, TBP4, TBP5, TBP6 o TBP7. En algunas
15 modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano comprenden una HC y una LC, en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 53 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 54. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan
20 proteínas de unión a TfR humano comprenden una HC y una LC, en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 55 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 54. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano comprenden una HC y una LC,
25 en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 56 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 57. En algunas

modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano comprenden una HC y una LC, en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 58 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 59. En algunas

5 modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano comprenden una HC y una LC, en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 60 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 61. En algunas

10 modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano comprenden una HC y una LC, en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 62 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 63. En algunas

modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano comprenden una HC y una LC,

15 en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 64 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 63.

En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humano descrita en la presente tiene un formato Fab, p. ej., TBP8. En algunas modalidades, en la presente descripción se

20 proporcionan proteínas de unión a TfR humanos comprenden una HC y una LC, y en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 65 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 59.

En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humano descrita en la presente tiene un formato Fab-VHH, p. ej., TBP9. En algunas modalidades, en la presente

25 descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR

humanos comprenden una HC y una LC, en donde la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 66 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 67.

Tabla 6a. Secuencias ilustrativas de proteínas de unión a

5 TfR humano (una HC y una LC)

Proteína de unión a TfR humano (TBP)	HC	LC
TBP1 (TBD1 Fab-hIgG4PAA Fc)	EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCVASGFT FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSS YIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAREHGYSNSDAFDIWG QGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG (sec. con núm. de ident.: 53)	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQG ISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFA TYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (sec. con núm. de ident.: 54)
TBP2 (TBD2 Fab-hIgG4PAA Fc)	EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCVASGF TFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISR SSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAF DKWGGQGTILVTVSSASTKGXVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPPSSSLGKTKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKV SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEAL HNHYTQKSLSLGLG, en donde X es S o C. (sec. con núm. de ident.: 55)	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQG ISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFA TYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (sec. con núm. de ident.: 54)
TBP3 (TBD3 Fab-hIgG4PAA Fc)	EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCVASGFT FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSS YIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDIWG QGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQG ISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFA TYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS

	LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (sec. con núm. de ident.: 56)	KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (sec. con núm. de ident.: 57)
TBP4 (TBD4 Fab- hIgG4PAA Fc)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGF TFSSYSMNWVRQAPGKLEWVSSISS SSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAF DNWGQGTLLTVVSSASTKGXVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLGLG, en donde X es S o C. (sec. con núm. de ident.: 58)	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQG ISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTEFTLTITSSLPEDFA TYYCLQHNSYPWTFGQGTKEIKRTVAA PSVFIFFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (sec. con núm. de ident.: 59)
TBP5 (TBD5 Fab- hIgG4PAA Fc)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FRTYWMHWVRQAPGKGLLWVSRINGDGS RTNYADSVKGRFTISRDNAKTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARSSYAFDVWGQGTLMV TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKT YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG (sec. con núm. de ident.: 60)	DVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL LSDDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLS NRASGVDPDRFSGSGSGTVFTLKISSVEAA DVGYYCMQRIEFPLTFGGGTKEIKRTV AAPSVFIFFPPSDEQLKSGTASVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQLSSPVTKSFNRGEC (sec. con núm. de ident.: 61)
TBP6 (TBD6 Fab- hIgG4PAA Fc)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FRTYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINDGS RTNYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARSSYAFDVWGQGTLLV TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKT YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL LSDDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLS NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGYYCMQRIEFPLTFGGGTKEIKRTV AAPSVFIFFPPSDEQLKSGTASVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQLSSPVTKSFNRGEC (sec. con núm. de ident.: 63)

	(sec. con núm. de ident.: 62)	
TBP7 (TBD7 Fab-hIgG4PAA Fc)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FRITYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGS RTNYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARSSYAFHVWGQGLTV TVSSASTKGXVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKT YTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPCCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTHQD WLNKGKEYCKVSNKGLPSSIEKTSKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGL, en donde X es S o C. (sec. con núm. de ident.: 64)	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL LSDDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLS NRASGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYCMQRIEFPLTFGGGTKEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC (sec. con núm. de ident.: 63)
TBP8 (TBD4 Fab)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFT FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSS YIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWG QGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKC (sec. con núm. de ident.: 65)	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGI SHYLVWFQKPGKVPKRLIYAASSLQSGV PSRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYY CLQHNSYPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC (sec. con núm. de ident.: 59)
TBP9 (TBD4 Fab-VHH)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFT FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSS YIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWG QGTLLTVSSASTKGPCVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKC KTHTGGGGQGGGGQGGGGQGGGGQGGGG QEVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGR YIDETAVAWFRQAPGKGRFVAGIGGGV DITYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMN NSLRPEDTAVYYCGARPGRPLITSKVAD LYPYWGQGLTVVSSPP (sec. con núm. de ident.: 66)	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGI SHYLVWFQKPGKVPKRLIYAASSLQSGV PSRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYY CLQHNSYPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQCGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC (sec. con núm. de ident.: 67)

En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humana descrita en la presente tiene más de una cadena pesada (HC) y/o más de una cadena ligera (ver la Tabla 5 6b). En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humana tiene dos cadenas pesadas (HC1 y HC2) y dos cadenas ligeras (LC1 y LC2). En algunas modalidades, la proteína

de unión a TfR humana descrita en la presente tiene un formato de anticuerpo heterodimérico, p. ej., TBP10, TBP11, TBP12 o TBP13.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano que comprenden dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y dos cadenas ligeras LC1 y LC2, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 64, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 63, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 51 y LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano que comprenden dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y dos cadenas ligeras LC1 y LC2, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 55, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 54, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 51 y LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano que comprenden dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y dos cadenas ligeras LC1 y LC2, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 56, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 57, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 51 y LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano que comprenden dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y dos cadenas

ligeras LC1 y LC2, en donde HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 58, LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 51 y LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52.

5 En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humano tiene dos cadenas pesadas (HC1 y HC2) y una cadena ligera (LC1), p. ej., TBP14, TBP15, TBP16. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano que comprenden dos cadenas
10 pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 68, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 69. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a
15 TfR humano que comprenden dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 138, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 139. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR humano que comprenden
20 dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 166, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 54, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 167.

Tabla 6b. Secuencias ilustrativas de proteínas de unión a
TfR humano (múltiples HC y/o LC)

Proteína de unión a TfR humano (TBP)	HC1	LC1	HC2	LC2
TBP10 (Ab heterodimérico de isotipo TBD7)	Sec. con núm. de ident.: 64	Sec. con núm. de ident.: 63	Sec. con núm. de ident.: 51	Sec. con núm. de ident.: 52
TBP11 (Ab heterodimérico de isotipo TBD2)	Sec. con núm. de ident.: 55	Sec. con núm. de ident.: 54	Sec. con núm. de ident.: 51	Sec. con núm. de ident.: 52
TBP12 (Ab heterodimérico de isotipo TBD3)	Sec. con núm. de ident.: 56	Sec. con núm. de ident.: 57	Sec. con núm. de ident.: 51	Sec. con núm. de ident.: 52
TBP13 (Ab heterodimérico de TBD4-)	Sec. con núm. de ident.: 58	Sec. con núm. de ident.: 59	Sec. con núm. de ident.: 51	Sec. con núm. de ident.: 52
TBP14 (Brazo heteromab de TBD4-uno, A378C)	Sec. con núm. de ident.: 68	Sec. con núm. de ident.: 59	Sec. con núm. de ident.: 69	N/A*
TBP15 (brazo heteromab2 de TBD4-uno, S124C)	Sec. con núm. de ident.: 138	Sec. con núm. de ident.: 59	Sec. con núm. de ident.: 139	N/A*
TBP16 (Brazo heteromab de TBD2-uno, S124C)	Sec. con núm. de ident.: 166	Sec. con núm. de ident.: 54	Sec. con núm. de ident.: 167	N/A*
Sec. con núm. de ident.: 68	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSY IYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGGG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKG QPREPQVSTLPPSQEEMTKNQVSLMCLVYGFPYPSDICEVESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSVLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG			
Sec. con núm. de ident.: 69	ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQGDMTKNQVQLTCLVKGFPYPSDI CWEVESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLASRLTVDKSRWQEGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSLG			

Sec. con núm. de ident.: 138	EVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSY IYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGQG TLVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVSTLPPSQEEMTKNQVSLMCLVYGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LSDGGSFFLYSVLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
Sec. con núm. de ident.: 139	ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQGDMTKNQVQLTCLVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGGSFFLASRLTVDKSRWQEGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSLG
Sec. con núm. de ident.: 166	EVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSY IYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDKWGQG TLVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LSDGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
Sec. con núm. de ident.: 167	ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWXVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTPPVLDSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
*N/A = no aplicable, lo que significa que el TBP no tiene esa cadena pesada o ligera.	

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión del receptor de transferrina (TfR) humano monovalente, en donde el dominio de unión a TfR humano se une a un epítipo que comprende uno o más residuos en (a) residuos 346-364 FGNMEGDCPSDWKTDSTCR (sec. con núm. de ident.: 119), (b) residuos 243-247 FEDLY (sec. con núm. de ident.: 162) y residuos 345-364 LFGNMEEGDCPSDWKTDSTCR) (sec. con núm. de ident.: 163), o (c) residuos 243-247 FEDLY (sec. con núm. de ident.: 162), residuos 259-263 AGKIT (sec. con núm. de ident.: 164) y residuos 532-538 (VEKLTLD) (sec. con núm. de ident.: 165), de TfR humana.

En la presente descripción también se proporcionan anticuerpos que comprenden una VH que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 seleccionadas de la Tabla 1, y/o una VL que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 seleccionadas de la Tabla 2. En algunas modalidades, tales anticuerpos comprenden una VH y/o una VL seleccionada de la Tabla 3.

Las proteínas o anticuerpos de unión a TfR descritos en la presente pueden producirse de manera recombinante en una célula huésped, por ejemplo, usando un vector de expresión. Por ejemplo, un vector de expresión puede incluir una secuencia que codifica uno o más péptidos señal que facilitan la secreción del (los) polipéptido(s) de una célula huésped. Los vectores de expresión que contienen un polinucleótido de interés (p. ej., un polinucleótido que codifica una cadena pesada o una cadena ligera de las proteínas o anticuerpos de unión a TfR) pueden transferirse a una célula huésped mediante métodos bien conocidos. Adicionalmente, los vectores de expresión pueden contener uno o más marcadores de selección, p. ej., tetraciclina, neomicina y dihidrofolato reductasa, para ayudar en la detección de células huéspedes transformadas con las secuencias polinucleotídicas deseadas.

Una célula huésped incluye células transfectadas, transformadas, transducidas o infectadas de manera estable o transitoria con uno o más vectores de expresión que expresan la totalidad o una porción de las proteínas o anticuerpos de

unión a TfR descritos en la presente. De acuerdo a algunas modalidades, una célula huésped puede transfectarse, transformarse, transducirse o infectarse de manera estable o transitoria con un vector de expresión que expresa polipéptidos HC y un vector de expresión que expresa polipéptidos LC de proteínas o anticuerpos de unión a TfR descritos en la presente. En algunas modalidades, una célula huésped puede transfectarse, transformarse, transducirse o infectarse de manera estable o transitoria con un vector de expresión que expresa polipéptidos HC y LC de proteínas o anticuerpos de unión a TfR descritos en la presente. Las proteínas o anticuerpos de unión a TfR pueden producirse en células de mamífero, tales como células CHO, NS0, HEK293 o COS de acuerdo con técnicas bien conocidas en la técnica.

El medio, en el que se ha secretado las proteínas o anticuerpos de unión a TfR, puede purificarse mediante técnicas convencionales, tales como métodos de modo mixtos de cromatografía de intercambio iónico e interacción hidrofóbica. Por ejemplo, el medio puede aplicarse y eluirse de una proteína A o una columna G usando métodos convencionales; también pueden usarse métodos de modo mixtos de cromatografía de intercambio iónico e interacción hidrofóbica. El agregado soluble y los multímeros pueden eliminarse efectivamente mediante técnicas comunes, lo que incluye exclusión por tamaño, interacción hidrófoba, intercambio iónico, o cromatografía con hidroxapatita.

Pueden emplearse diversos métodos de purificación de proteínas, y tales métodos se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Deutscher, Methods in Enzymology 182: 83-89 (1990) y Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, 3rd Edition, Springer, NY (1994).

Proteínas de unión a TfR de ratón

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente de ratón (“proteínas de unión a TfR de ratón” o mTBP). Estas proteínas de unión a TfR de ratón pueden servir como moléculas sustitutas como las proteínas de unión a TfR humanos descritas anteriormente en modelos de ratón. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente de ratón comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), y la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente de ratón comprende una VH que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 seleccionadas de la Tabla 7a, y/o una VL que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 seleccionadas de la Tabla 7a. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR monovalente humano comprende una VH y/o una VL seleccionada de la Tabla 7a.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente de ratón, en donde el dominio de unión a TfR de ratón comprende una VH y una VL, en donde una VH comprende las regiones determinantes de la complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, y en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 71, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 72, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 73, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 74, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 75 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 76. En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente de ratón, en donde el dominio de unión a TfR de ratón comprende una VH que comprende la sec. con núm. de ident.: 77 y una VL que comprende la sec. con núm. de ident.: 78.

En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR de ratón descrita en la presente tiene una cadena pesada (HC) y una cadena ligera, p. ej., mTBP1 en la Tabla 7b. En algunas modalidades, la proteína de unión a TfR de ratón tiene dos cadenas pesadas (HC1 y HC2) y dos cadenas ligeras (LC1 y LC2), p. ej., mTBP2 en la Tabla 7b.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente de ratón, en donde el dominio de unión a TfR de ratón comprende una cadena pesada (HC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 79 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 80.

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR de ratón descritas en la presente son anticuerpos heterodiméricos que comprenden un primer brazo que comprende un dominio de unión a TfR monovalente de ratón y un segundo brazo que es un brazo nulo que no se une a ninguna diana humana conocida (p. ej., un brazo de isotipo). En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan proteínas de unión a TfR de ratón que comprenden dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y dos cadenas ligeras LC1 y LC2, en donde HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 79, LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 80, HC2 comprende las sec. con núm. de ident.: 51, y LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52.

Además, en la presente descripción se proporcionan anticuerpos que comprenden una VH que comprende HCDR1, HCDR2 y HCDR3 seleccionadas de la Tabla 7a, y/o una VL que comprende LCDR1, LCDR2 y LCDR3 seleccionadas de la Tabla 7a. En algunas modalidades, tales anticuerpos comprenden una VH y/o una VL seleccionada de la Tabla 7a.

Tabla 7a. Secuencias ilustrativas del dominio de unión a
TfR de ratón

Región	Secuencia	Sec. con núm. de ident.
HCDR1 (KABAT)	GSYWIC	71
HCDR2 (KABAT)	CIYSTSGGRITYYASWVKG	72
HCDR3 (KABAT)	GDDSDISDAYFDL	73
LCDR1 (KABAT)	QSSQSVYNNRLA	74
LCDR2 (KABAT)	DASTLAS	75
LCDR3 (KABAT)	QGTFFSSGWSWA	76
VH	QSLEESGGDLVKPEGSLTLTCTASGFSFSGSYWICWVRQAP GKGLEWIGCIYSTSGGRITYYASWVKGRFTISKTSSTVTTLQ MTSLTAADTATYFCARGDDSDISDAYFDLWGPGLTVTVSS	77
VL	ALDMTQTASPVSAAVGGTGTINCQSSQSVYNNRLAWYQQ KPGQPPKLLIYDASTLASGVPSPRFKSGSGTQFTLTISGV QSDDSATYYCQGTFFSSGWSWAFGGGTEVVVK	78

5 Tabla 7b. Secuencias ilustrativas de proteínas de unión a
TfR de ratón

Proteína de unión a TfR de ratón (mTBP)	HC1	LC1	HC2	LC2
mTBP1	Sec. con núm. de ident.: 79	Sec. con núm. de ident.: 80	N/A	N/A
mTBP2	Sec. con núm. de ident.: 79	Sec. con núm. de ident.: 80	Sec. con núm. de ident.: 51	Sec. con núm. de ident.: 52
Sec. con núm. de ident.: 79	QSLEESGGDLVKEGSLTLTCTASGFSFSGSYWICWVRQAPGKGLEWIGCIYSTSGGRITYYASWVKGRFTISKTSSTVTTLQMTSLTAADTATYFCARGDDSDISDAYFDLWGPGLTVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL			
Sec. con núm. de ident.: 80	ALDMTQTASPVSAAVGGTGTINCQSSQSVYNNRLAWYQQKPGQPPKLLIYDASTLASGVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQSDDSATYYCQGTFFSSGWSWAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC			
*N/A = no aplicable, lo que significa que el TBP no tiene esa cadena pesada o ligera.				

Conjugados que comprenden proteína de unión a TfR humana
o de ratón

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan conjugados que comprenden proteínas o anticuerpos de unión a TfR humanos o de ratón descritos en la presente y un agente terapéutico. En algunas modalidades, el agente terapéutico se selecciona de un ARN bicatenario (p. ej., ARNip, ARNap), oligonucleótido (p. ej., oligonucleótido no codificante), péptido, molécula pequeña, nanopartícula, nanopartícula lipídica, exosoma, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, o una combinación de estos. En algunas modalidades, el agente terapéutico es un ARN bicatenario (ARNbc). En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena no codificante es complementaria a un ARNm diana seleccionado de SNCA, MAPT, APP, ATXN2, ATXN3, SARM1, APOE, BACE1, FMR1, LRRK2, HTT, SOD1, SCN10A, SCN9A o ARNm de CACNA1B. En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena no codificante es complementaria al ARNm de SNCA. En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena no codificante es complementaria al ARNm de MAPT.

En algunas modalidades, la relación de agente terapéutico a proteína es de aproximadamente 1 a 3. En

algunas modalidades, la relación de agente terapéutico a proteína es de aproximadamente 1. En algunas modalidades, la relación de agente terapéutico a proteína es de aproximadamente 2. En algunas modalidades, la relación de agente terapéutico a proteína es de aproximadamente 3.

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden uno o más residuos de cisteína nativos, que se pueden usar para la conjugación. Por ejemplo, en algunas modalidades, la proteína de unión a TfR humano descrita en la presente comprende una cisteína nativa en la posición 220 de la cadena ligera y/o una cisteína nativa en la posición 226 de la cadena pesada, que se puede usar para la conjugación (todos los residuos de acuerdo con la numeración del índice EU).

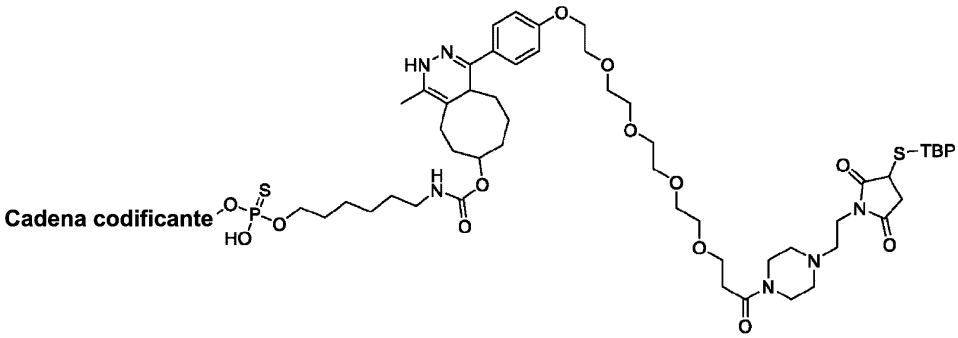
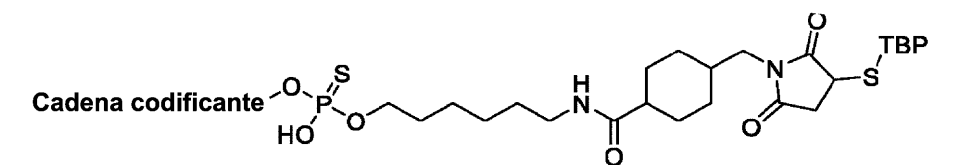
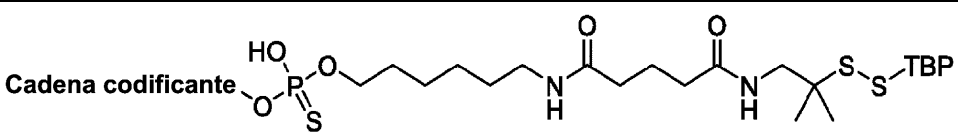
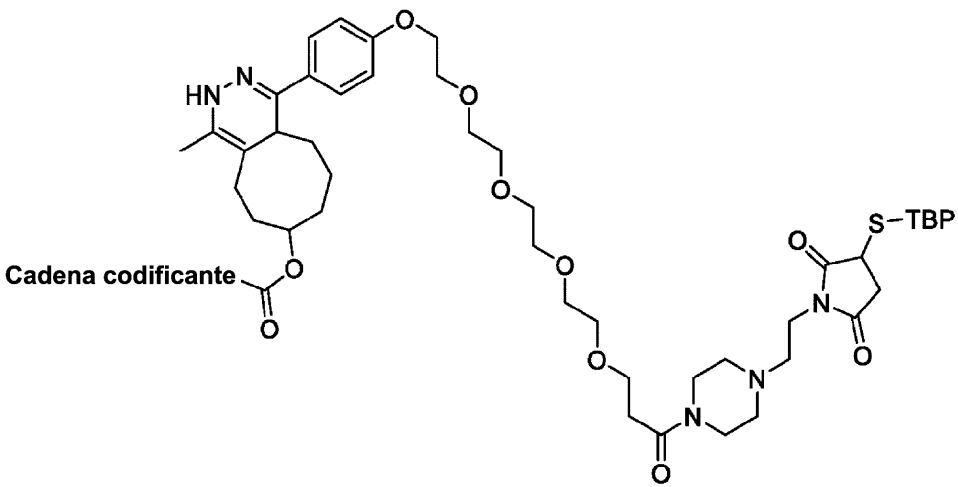
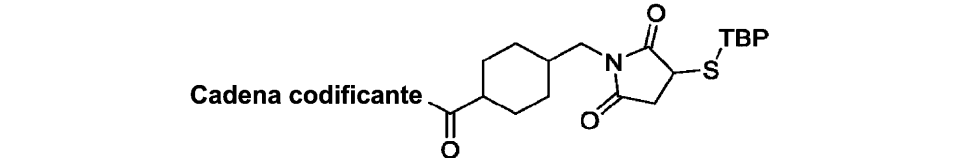
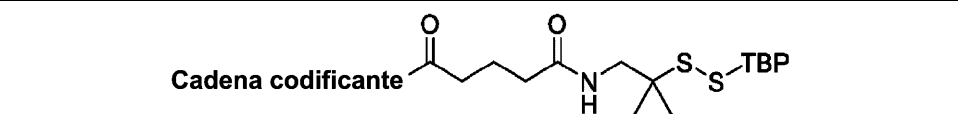
En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden uno o más residuos de cisteína diseñados por ingeniería para la conjugación. El enfoque de incluir cisteínas diseñadas por ingeniería como medio para la conjugación se ha descrito en WO 2018/232088. En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una cadena pesada que comprende una o más cisteínas en los siguientes residuos: 124, 157, 162, 262, 373, 375, 378, 397, 415 (todos los residuos de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden

una cadena ligera (p. ej., una cadena ligera kappa) que comprende una o más cisteínas en los siguientes residuos: 156, 171, 191, 193, 202, 208 (todos los residuos de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región constante de cadena pesada que comprende cisteína en el residuo 124 (de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región constante de cadena ligera que comprende cisteína en el residuo 156 (de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden una región Fc de inmunoglobulina que comprende cisteína en el residuo 378 (de acuerdo con la numeración del índice EU).

En algunas modalidades, el agente terapéutico se une a la proteína de unión a TfR humana o de ratón a través de un enlazador. En algunas modalidades, el enlazador es un enlazador de Mal-Tet-TCO, enlazador de SMCC o enlazador de GDM (las estructuras de estos enlazadores se muestran en la Tabla 8).

Tabla 8. Estructuras enlazadoras ilustrativas

Enlazador	Estructura
1	Enlazador 1 de Mal-Tet-TCO

	 Cadena codificante
2	Enlazador 1 de SMCC
	 Cadena codificante
3	Enlazador 1 de GDM
	 Cadena codificante
4	Enlazador 2 de Mal-Tet-TCO
5	 Cadena codificante
6	Enlazador 2 de SMCC
7	 Cadena codificante
8	Enlazador 2 de GDM
9	 Cadena codificante
10	Forma abierta de anillo hidrolizado del enlazador 2 de Mal-Tet-TCO

	Cadena codificante
8	Forma abierta de anillo hidrolizado del enlazador 3 de Mal-Tet-TCO
	Cadena codificante
9	Forma abierta de anillo hidrolizado del enlazador 1 de SMCC
	Cadena codificante
10	Forma abierta de anillo hidrolizado del enlazador 2 de SMCC
	Cadena codificante

Los conjugados descritos en la presente se pueden preparar mediante una variedad de procedimientos conocidos por un experto en la técnica, algunos de los cuales se ilustran en las preparaciones y ejemplos a continuación,

p. ej., en el Ejemplo 3. Un experto en la técnica reconoce que las etapas de síntesis específicas para cada una de las vías descritas pueden combinarse de diferentes maneras, o junto con etapas de diferentes esquemas, para preparar los conjugados. Los productos de cada etapa pueden recuperarse mediante métodos convencionales bien conocidos en la técnica, que incluyen extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración y cristalización. Los reactivos y los materiales de partida están fácilmente disponibles para un experto en la técnica.

En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR con cisteínas nativas o diseñadas por ingeniería genética descritas en la presente se pueden tratar primero con un agente reductor, p. ej., DTT, y después reoxidizarse con un agente oxidante, p. ej., DHAA. Las proteínas de unión a TfR oxidadas resultantes después se incuban con un agente terapéutico funcionalizado con enlazador, p. ej., enlazador-ARNbc, para producir los conjugados.

Conjugados de proteínas de unión a TfR humanos-ARNbc

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): R-L-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano o de ratón; y en donde L es un enlazador, o está

opcionalmente ausente. En algunas modalidades, P es una proteína de unión a TfR humana o de ratón descrita en la presente. En algunas modalidades, la relación de R a P es de aproximadamente 1 a 3. En algunas modalidades, la relación de R a P es de aproximadamente 1. En algunas modalidades, la relación de R a P es de aproximadamente 2. En algunas modalidades, la relación de R a P es de aproximadamente 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano o de ratón; en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): $R-L-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, en la presente descripción el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones

determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3 y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3,
5 LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 22, la LCDR1 comprende la sec.
10 con núm. de ident.: 23, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5, y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 24; o
- (b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
15 ident.: 25, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 26, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

20 En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): R-L-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un
25 dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, en donde el

dominio de unión a Tfr humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3 y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

(a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 7, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(c) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 8, la LCDR1 comprende la sec.

con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

5 (d) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la
sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende
la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3
10 comprende la sec. con núm. de ident.: 12;

(e) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 14, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
15 con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18;

(f) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
20 ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18; o

25 (g) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de

ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 20, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
5 comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

En algunas modalidades, en la presente descripción
se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): R-L-P, en
donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una
cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P
10 es una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr
monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está
opcionalmente ausente, en donde el dominio de unión a Tfr
humano comprende una región variable de cadena pesada (VH)
y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH
15 y VL comprenden las siguientes secuencias:

(a) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 27 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
20 identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 28;

(b) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 29 y la VL comprende
25 una secuencia que tiene al menos 95 % de

identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 28;

5 (c) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 30 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 31;

10 (d) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 32 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 33;

15 (e) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 34 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
20 de ident.: 35;

(f) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 36 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
25 identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 37; o

(g) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 38 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 37.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (I): R-L-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, en donde el dominio de unión a Tfr humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH y VL comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 27 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 28;
- (b) la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 29 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 28;
- (c) la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 31;

- (d) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
32 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 33;
- (e) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
5 34 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 35;
- (f) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
36 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37; o
- 10 (g) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
38 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37.

En algunas modalidades, en la presente
descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II):
15 $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que
comprende una cadena codificante y una cadena no
codificante; en donde P es una proteína que comprende un
dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es
un enlazador, o está opcionalmente ausente, en la presente
20 descripción el dominio de unión a TfR humano comprende una
región variable de cadena pesada (VH) y una región variable
de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones
determinantes de complementariedad de cadenas pesadas
HCDR1, HCDR2 y HCDR3 y la VL comprende las regiones
25 determinantes de complementariedad de cadenas ligeras

LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

- (a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 21, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 22, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 23, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5, y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 24; o
- (b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 25, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 26, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 18, y en donde n es 1 a 3.

En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, en donde el

dominio de unión a Tfr humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3 y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde las HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las siguientes secuencias:

(a) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 3, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(b) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 7, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 4, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(c) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 2, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 8, la LCDR1 comprende la sec.

con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 6;

(d) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
5 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la
sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende
la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3
10 comprende la sec. con núm. de ident.: 12;

(e) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
ident.: 14, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
15 con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18;

(f) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de
20 ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 15, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
comprende la sec. con núm. de ident.: 18; o

(g) la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.:
25 13, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de

ident.: 19, la HCDR3 comprende la sec. con
núm. de ident.: 20, la LCDR1 comprende la sec.
con núm. de ident.: 16, la LCDR2 comprende la
sec. con núm. de ident.: 17 y la LCDR3
5 comprende la sec. con núm. de ident.: 18,
y en donde n es 1 a 3.

En algunas modalidades, n es 1. En algunas
modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción
10 se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en
donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una
cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P
es una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr
monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está
15 opcionalmente ausente, en donde el dominio de unión a Tfr
humano comprende una región variable de cadena pesada (VH)
y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH
y VL comprenden las siguientes secuencias:

(a) la VH comprende una secuencia que tiene al
20 menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 27 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 28;

25 (b) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la

sec. con núm. de ident.: 29 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 28;

5 (c) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 31;

10 (d) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 32 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 33;

15 (e) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 34 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 35;

20 (f) la VH comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 36 y la VL comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de

identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 37; o

5 (g) la VH comprende una secuencia que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 38 y la VL comprende
una secuencia que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 37,
y en donde n es 1 a 3.

10 En algunas modalidades, n es 1. En algunas
modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción
se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en
donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una
15 cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P
es una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr
monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está
opcionalmente ausente, en donde el dominio de unión a Tfr
humano comprende una región variable de cadena pesada (VH)
20 y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH
y VL comprenden las siguientes secuencias:

(a) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
27 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 28;

- (b) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
29 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 28;
- (c) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
5 30 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 31;
- (d) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
32 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 33;
- 10 (e) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
34 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 35;
- (f) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
36 y la VL comprende la sec. con núm. de
15 ident.: 37; o
- (g) la VH comprende la sec. con núm. de ident.:
38 y la VL comprende la sec. con núm. de
ident.: 37,
y en donde n es 1 a 3.

20 En algunas modalidades, n es 1. En algunas
modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente
descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II):
(R-L)_n-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que
25 comprende una cadena codificante y una cadena no
codificante; en donde P es una proteína que comprende un

dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador, o está opcionalmente ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones determinantes de la complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de la complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 12, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador, u opcionalmente ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.:

32 y VL comprende la sec. con núm. de ident.: 33, y en donde n es 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3.

En algunas modalidades, la proteína (P) también
5 se une a TfR de mono Cynomolgus. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR humano de la proteína (P) es un Fab, scFv, Fv o scFab. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR humano de la proteína (P) es un Fab. En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR humano de
10 la proteína (P) comprende además una región constante de cadena pesada que comprende cisteína en el residuo 124 (de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, el dominio de unión a TfR humano de la proteína (P) comprende además una región constante de
15 cadena ligera que comprende cisteína en el residuo 156 (de acuerdo con la numeración del índice EU).

En algunas modalidades, la proteína (P) comprende además un extensor de vida media, p. ej., una región Fc de inmunoglobulina o un VHH que se une a albúmina
20 sérica humana (HSA). En algunas modalidades, la proteína (P) comprende una región Fc de inmunoglobulina, p. ej., una región Fc de IgG4 humano modificada o una región Fc de IgG1 humana modificada. En algunas modalidades, la proteína (P) comprende una región Fc de IgG4 humana
25 modificada que comprende prolina en el residuo 228 y alanina en los residuos 234 y 235 (todos los residuos se

numeran de acuerdo con la numeración del índice EU, también denominado región Fc de hIgG4PAA). En algunas modalidades, la proteína (P) comprende una región Fc de IgG1 humana modificada que comprende alanina en los residuos 234, 235 y 329, serina en la posición 265, ácido aspártico en la posición 436 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la numeración del índice EU, también denominado región Fc de hIgG1efectora nula o región Fc de hIgG1EN). En algunas modalidades, la proteína (P) comprende una región Fc de IgG1 o IgG4 humana modificada, en donde la región Fc comprende un primer dominio CH3 de Fc que comprende una serina en la posición 349, una metionina en la posición 366, una tirosina en la posición 370 y una valina en la posición 409; y un segundo dominio CH3 de Fc que comprende una glicina en la posición 356, un ácido aspártico en la posición 357, una glutamina en la posición 364 y una alanina en la posición 407 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, la proteína (P) comprende una región Fc de IgG1 o IgG4 humana modificada que comprende un primer dominio CH3 de Fc que comprende leucina en el residuo 405 y un segundo dominio CH3 de Fc que comprende arginina en el residuo 409 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la numeración del índice EU).

En algunas modalidades, la proteína (P) comprende un VHH que se une a HSA humana. En algunas

modalidades, el VHH también une albúmina de ratón, rata y/o mono Cynomolgus. En algunas modalidades, tal VHH comprende la CDR1 que comprende la sec. con núm. de ident.: 39, la CDR2 que comprende la sec. con núm. de ident.: 40, 5 y la CDR3 que comprende la sec. con núm. de ident.: 41. En algunas modalidades, tal VHH comprende la sec. con núm. de ident.: 42. En algunas modalidades, el VHH se enlaza al dominio de unión a TfR a través de un enlazador peptídico, p. ej., (GGGGQ)₄ (sec. con núm. de ident.: 70).

10 En algunas modalidades, la proteína (P) comprende una cadena pesada (HC) y una cadena ligera (LC), en donde la HC y la LC comprenden las siguientes secuencias:

(a) la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 53 y la LC comprende la sec. con núm. de 15 ident.: 54;

(b) la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 55 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 54;

(c) la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 56 y la LC comprende la sec. con núm. de 20 ident.: 57;

(d) la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 58 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 59;

(e) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:
60 y la LC comprende la sec. con núm. de
ident.: 61;

(f) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:
5 62 y la LC comprende la sec. con núm. de
ident.: 63; o

(g) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:
64 y la LC comprende la sec. con núm. de
ident.: 63.

10 En algunas modalidades, la proteína (P)
comprende una HC y una LC, y en donde la HC comprende la
sec. con núm. de ident.: 65 y la LC comprende la sec. con
núm. de ident.: 59.

En algunas modalidades, la proteína (P)
15 comprende una HC y una LC, y en donde la HC comprende la
sec. con núm. de ident.: 66 y la LC comprende la sec. con
núm. de ident.: 67.

En algunas modalidades, la proteína (P)
comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera
20 LC1, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.:
68, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la
HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 69.

En algunas modalidades, la proteína (P)
comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera
25 LC1, en donde HC1 comprende la sec. con núm. de ident.:

138, LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 139.

En algunas modalidades, la proteína (P) comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en
5 donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 166, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 54, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 167.

En algunas modalidades, la proteína (P) es un anticuerpo heterodimérico que comprende un primer brazo
10 que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano y un segundo brazo que es un brazo nulo, p. ej., un brazo que no se une a ninguna diana humana conocida, p. ej., el brazo de isotipo en la Tabla 5.

En algunas modalidades, la proteína (P)
15 comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y dos cadenas ligeras LC1 y LC2, en donde HC1, LC1, HC2 y LC2 comprenden las siguientes secuencias:

- (a) HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 64,
LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 63,
20 HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 51 y
LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52;
- (b) HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 55,
LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 54,
HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 51 y
25 LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52;

(c) HC1 comprende la sec. con núm. de ident.:
56, LC1 comprende la sec. con núm. de ident.:
57, HC2 comprende la sec. con núm. de ident.:
51 y LC2 comprende la sec. con núm. de
5 ident.: 52; o

(d) HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 58,
LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59,
HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 51 y
LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52.

10 En algunas modalidades, el enlazador (L) está
presente y se selecciona de: un enlazador Mal-Tet-TCO, un
enlazador de SMCC o un enlazador de GDM (ver la Tabla 8).
En algunas modalidades, el enlazador (L) está ausente.

En algunas modalidades, la proteína (P) se une al
15 extremo 3' de la cadena codificante del ARNbc. En algunas
modalidades, la proteína (P) se une al extremo 5' de la
cadena codificante del ARNbc. En algunas modalidades, la
proteína (P) se une a una posición interna de la cadena
codificante del ARNbc. En algunas modalidades, la proteína
20 (P) se une al extremo 3' de la cadena no codificante del
ARNbc. En algunas modalidades, la proteína (P) se une a una
posición interna de la cadena no codificante del ARNbc.

En algunas modalidades, el ARNbc comprende una
cadena no codificante complementaria a un ARNm diana
25 seleccionado de SNCA, MAPT, APP, ATXN2, ATXN3, SARM1, APOE,
BACE1, FMR1, LRRK2, HTT, SOD1, SCN10A, SCN9A o ARNm de

CACNA1B. En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena no codificante complementaria al ARNm de SNCA. En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena no codificante complementaria al ARNm de MAPT.

5 En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante del ARNbc tienen una longitud de 15-30 nucleótidos cada una, p. ej., una longitud de 20-25 nucleótidos. En algunas modalidades, el ARNbc tiene una cadena codificante de 21 nucleótidos y una cadena no
10 codificante de 23 nucleótidos. En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante del ARNbc pueden tener extremos no apareados en el extremo 5' o en el extremo 3' (es decir, extremo no apareado 5' o extremo no apareado 3'). Por ejemplo, la cadena codificante y la
15 cadena no codificante pueden tener extremos no apareados en 5' o 3' de 1 a 5 nucleótidos o de 1 a 3 nucleótidos. En algunas modalidades, la cadena no codificante comprende un extremo no apareado en 3' de dos nucleótidos.

Se proporcionan en la Tabla 9a secuencias de cadena
20 codificante y cadena no codificante no modificadas ilustrativas de ARNbc que se dirigen al ARNm de SNCA humano. Se proporcionan en la Tabla 9b secuencias de cadena codificante y cadena no codificante no modificadas ilustrativas de ARNbc que se dirigen al ARNm de MAPT humano.

Tabla 9a. Secuencias de ácido nucleico no modificadas de ARNbc dirigidas al ARNm de SNCA humano (ARNip de SNCA)

Núm. de ARNbc	Cadena codificante (5' a 3')	Sec. con núm. de ident.	Cadena no codificante (5' a 3')	Sec. con núm. de ident.	Posición de inicio de la región diana del transcrito de SNCA humano NM_000345.4
1	CUGUACAAGUGCUCAGUUC CA	81	UGGAACUGAGCACUUGUAC AGGA	82	701
2	UGUACAAGUGCUCAGUUC AA	83	UUGGAACUGAGCACUUGUA CAGG	84	702
3	GAGCAAGUGACAAAUGUUG GA	85	UCCAACAUUUGUCACUUGC UCUU	86	408
4	UUCCAAUGUGCCCAGUCAU GA	87	UCAUGACUGGGCACAUUGG AACU	88	717
5	AGUGACUACCACUUAUUUC UA	89	UAGAAAUAAGUGGUAGUCA CUUA	90	926
6	GUGACUACCACUUAUUUCU AA	91	UUAGAAAUAAGUGGUAGUC ACUU	92	927
7	CUGUACAAGnGCUCAGUUC A, en donde n es una entidad abásica.	116	UGGAACUGAGCACUUGUAC AGGA	82	701

5 Tabla 9b. Secuencias de ácido nucleico no modificadas de ARNbc dirigidas al ARNm de MAPT humano (ARNip de MAPT)

Núm. de ARNbc	Cadena codificante (5' a 3')	Sec. con núm. de ident.	Cadena no codificante (5' a 3')	Sec. con núm. de ident.	Posición de inicio de la región diana del transcrito de MAPT humano NM_001123067.4
20	GUGGAAGUAAAAUCUGAG AAA	120	UUUCUCAGAUUUUACUUC ACCU	121	1070
21	CCAAGUGUGGCUCAUUAG GCA	122	UGCCUAAUGAGCCACACU GGAG	123	1020
22	UGCAAUAGUCUACAAAC CAA	124	UUGGUUUUGUAGACUAAUUG CACC	125	978*
* El último nucleótido no coincide con el transcrito.					

En algunas modalidades, el ARNbc se dirige al ARNm de SNCA. En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante de ARNbc comprenden un par de secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que
5 consiste en:

(a) la cadena codificante comprende una primera secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 81, y la cadena no
10 codificante comprende una segunda secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 82;

(b) la cadena codificante comprende una primera
15 secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 83, y la cadena no codificante comprende una segunda secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de
20 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 84;

(c) la cadena codificante comprende una primera secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la
25 sec. con núm. de ident.: 85, y la cadena no codificante comprende una segunda secuencia

de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 86;

5 (d) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 90 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 87, y la cadena no
codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de
10 identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 88;

(e) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 90 % de identidad de secuencia con la
15 sec. con núm. de ident.: 89, y la cadena no
codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 90;

20 (f) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 90 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 91, y la cadena no
codificante comprende una segunda secuencia
25 de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de

identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 92; y

(g) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
5 menos 90 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 116, y la cadena no
codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
10 de ident.: 82,

en donde opcionalmente uno o más nucleótidos de la cadena
codificante y la cadena no codificante son nucleótidos
modificados independientemente, y en donde opcionalmente
uno o más enlaces internucleotídicos de la cadena
15 codificante y la cadena no codificante son enlaces
internucleotídicos modificados.

En algunas modalidades, la cadena codificante y la
cadena no codificante de ARNbc comprenden un par de
secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que
20 consiste en:

(a) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 81, y la cadena no
25 codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de

identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 82;

5 (b) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 83, y la cadena no
codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
10 de ident.: 84;

(c) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 85, y la cadena no
15 codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 86;

(d) la cadena codificante comprende una primera
20 secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 87, y la cadena no
codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de
25 identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 88;

- (e) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 89, y la cadena no
5 codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 90;
- (f) la cadena codificante comprende una primera
10 secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 91, y la cadena no
codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de
15 identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 92; y
- (g) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 95 % de identidad de secuencia con la
20 sec. con núm. de ident.: 116, y la cadena no
codificante comprende una segunda secuencia
de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 82,
- 25 en donde opcionalmente uno o más nucleótidos de la cadena
codificante y la cadena no codificante son nucleótidos

modificados independientemente, y en donde opcionalmente uno o más enlaces internucleotídicos de la cadena codificante y la cadena no codificante son enlaces internucleotídicos modificados.

5 En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante de ARNbc comprenden un par de secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que consiste en:

- 10 (a) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 81, y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 82;
- (b) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 83, y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 84;
- 15 (c) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 85, y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 86;
- (d) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 87, y la cadena no codificante
20 comprende la sec. con núm. de ident.: 88;
- (e) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 89 y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 90;
- (f) la cadena codificante comprende la sec. con
25 núm. de ident.: 91, y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 92; y

(g) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 116 y la cadena no codificante
comprende la sec. con núm. de ident.: 82,
en donde opcionalmente uno o más nucleótidos de la cadena
5 codificante y la cadena no codificante son nucleótidos
modificados independientemente, y en donde opcionalmente
uno o más enlaces internucleotídicos de la cadena
codificante y la cadena no codificante son enlaces
internucleotídicos modificados.

10 En algunas modalidades, el ARNbc se dirige al ARNm
de MAPT. En algunas modalidades, la cadena codificante y la
cadena no codificante de ARNbc comprenden un par de
secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que
consiste en:

15 (a) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
menos 90 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 120, y la cadena no
codificante comprende una segunda secuencia
20 de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de
identidad de secuencia con la sec. con núm.
de ident.: 121;

(b) la cadena codificante comprende una primera
secuencia de ácido nucleico que tiene al
25 menos 90 % de identidad de secuencia con la
sec. con núm. de ident.: 122, y la cadena no

codificante comprende una segunda secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 123; y

- 5 (c) la cadena codificante comprende una primera secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 124 y la cadena no codificante comprende una segunda secuencia
- 10 de ácido nucleico que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 125,

en donde opcionalmente uno o más nucleótidos de la cadena codificante y la cadena no codificante son nucleótidos

15 modificados independientemente, y en donde opcionalmente uno o más enlaces internucleotídicos de la cadena codificante y la cadena no codificante son enlaces internucleotídicos modificados.

En algunas modalidades, la cadena codificante y la

20 cadena no codificante de ARNbc comprenden un par de secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que consiste en:

- (a) la cadena codificante comprende una primera secuencia de ácido nucleico que tiene al
- 25 menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 120, y la cadena no

codificante comprende una segunda secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 121;

5 (b) la cadena codificante comprende una primera secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 122, y la cadena no codificante comprende una segunda secuencia
10 de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 123; y

(c) la cadena codificante comprende una primera
15 secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 124 y la cadena no codificante comprende una segunda secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de
20 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 125,

en donde opcionalmente uno o más nucleótidos de la cadena codificante y la cadena no codificante son nucleótidos modificados independientemente, y en donde opcionalmente uno o más enlaces internucleotídicos de la cadena
25 codificante y la cadena no codificante son enlaces internucleotídicos modificados.

En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante de ARN_{bc} comprenden un par de secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que consiste en:

- 5 (a) la cadena codificante comprende la sec. con
 núm. de ident.: 120, y la cadena no codificante
 comprende la sec. con núm. de ident.: 121;
- (b) la cadena codificante comprende la sec. con
 núm. de ident.: 122, y la cadena no codificante
10 comprende la sec. con núm. de ident.: 123; y
- (c) la cadena codificante comprende la sec. con
 núm. de ident.: 124 y la cadena no codificante
 comprende la sec. con núm. de ident.: 125,
- en donde opcionalmente uno o más nucleótidos de la cadena
15 codificante y la cadena no codificante son nucleótidos
 modificados independientemente, y en donde opcionalmente
 uno o más enlaces internucleotídicos de la cadena
 codificante y la cadena no codificante son enlaces
 internucleotídicos modificados.

20 En algunas modalidades, en la presente
 descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II):
 $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que
 comprende una cadena codificante y una cadena no
 codificante, en donde la cadena codificante comprende la
25 sec. con núm. de ident.: 81, y la cadena no codificante
 comprende la sec. con núm. de ident.: 82; en donde P es una

proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador o está ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones determinantes de complementariedad de las cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 12, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades, L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARN_{bc}) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 81, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 82; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR

monovalente humano; y en donde L es un enlazador o está ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH
5 comprende la sec. con núm. de ident.: 32 y VL comprende la sec. con núm. de ident.: 33, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades, L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades,
10 L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la
15 cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 81, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 82; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde P comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera
20 LC1, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 68, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 69; y en donde L es un enlazador o está ausente, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es
25 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades,

L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II):
5 (R-L)_n-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 81, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 82; en donde P es
10 una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr monovalente humano, en donde P comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 138, LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, HC2 comprende la sec. con
15 núm. de ident.: 139; y en donde L es un enlazador o está ausente, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades, L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un
20 enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): (R-L)_n-P, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la
25 cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 120, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm.

de ident.: 121; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador o está ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones determinantes de complementariedad de las cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 12, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades, L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 120, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 121; en donde P es

una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador o está ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una
5 región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 32 y VL comprende la sec. con núm. de ident.: 33, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades,
10 L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una
15 cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 120, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 121; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde P
20 comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 68, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 69; y en donde L es un enlazador o está ausente, y en donde n es de 1 a 3. En
25 algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades,

L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II):
5 $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 120, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 121; en donde P es
10 una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde P comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 138, LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, HC2 comprende la sec. con
15 núm. de ident.: 139; y en donde L es un enlazador o está ausente, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades, L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un
20 enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la
25 cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 122, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm.

de ident.: 123; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador o está ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones determinantes de complementariedad de las cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 12, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades, L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 122, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 123; en donde P es

una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador o está ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una
5 región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 32 y VL comprende la sec. con núm. de ident.: 33, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades,
10 L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una
15 cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 122, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 123; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde P
20 comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 68, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 69; y en donde L es un enlazador o está ausente, y en donde n es de 1 a 3. En
25 algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades,

L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II):
5 $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 122, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 123; en donde P es
10 una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr monovalente humano, en donde P comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 138, LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, HC2 comprende la sec. con
15 núm. de ident.: 139; y en donde L es un enlazador o está ausente, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades, L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un
20 enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la
25 cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 124, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm.

de ident.: 125; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador o está ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende las regiones determinantes de complementariedad de las cadenas pesadas HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y la VL comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde la HCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 1, la HCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 10, la HCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 11, la LCDR1 comprende la sec. con núm. de ident.: 9, la LCDR2 comprende la sec. con núm. de ident.: 5 y la LCDR3 comprende la sec. con núm. de ident.: 12, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades, L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 124, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 125; en donde P es

una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano; y en donde L es un enlazador o está ausente, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una
5 región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 32 y VL comprende la sec. con núm. de ident.: 33, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades,
10 L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II): $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una
15 cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 124, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 125; en donde P es una proteína que comprende un dominio de unión a TfR monovalente humano, en donde P
20 comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 68, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 69; y en donde L es un enlazador o está ausente, y en donde n es de 1 a 3. En
25 algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades,

L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un enlazador de SMCC en la Tabla 8.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporcionan conjugados de la Fórmula (II):
5 $(R-L)_n-P$, en donde R es un ARN bicatenario (ARNbc) que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante, en donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 124, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 125; en donde P es
10 una proteína que comprende un dominio de unión a Tfr monovalente humano, en donde P comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 138, LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, HC2 comprende la sec. con
15 núm. de ident.: 139; y en donde L es un enlazador o está ausente, y en donde n es de 1 a 3. En algunas modalidades, n es 1. En algunas modalidades, n es 2. En algunas modalidades, n es 3. En algunas modalidades, L es un enlazador en la Tabla 8. En algunas modalidades, L es un
20 enlazador de SMCC en la Tabla 8.

El ARNbc puede incluir modificaciones. Las modificaciones se pueden realizar en uno o más nucleótidos de la cadena codificante y/o cadena no codificante o en los enlaces internucleotídicos, que son los enlaces entre dos
25 nucleótidos en la cadena codificante o no codificante. Por ejemplo, algunas modificaciones en 2' de la ribosa o la

desoxirribosa pueden aumentar la estabilidad y la vida media del ARN o el ADN. Tales modificaciones en 2' pueden ser 2'-fluoro, 2'-O-metilo (es decir, 2'-metoxi) o 2'-O-alquilo.

En algunas modalidades, uno o más nucleótidos de la cadena codificante y/o la cadena no codificante son nucleótidos modificados independientemente, lo que significa que la cadena codificante y la cadena no codificante pueden tener diferentes nucleótidos modificados. En algunas modalidades, cada nucleótido de la cadena codificante es un nucleótido modificado. En algunas modalidades, cada nucleótido de la cadena no codificante es un nucleótido modificado. En algunas modalidades, el nucleótido modificado es un nucleótido modificado con 2'-fluoro, un nucleótido modificado con 2'-O-metilo o un nucleótido modificado con 2'-O-alquilo. En algunas modalidades, cada nucleótido de la cadena codificante y la cadena no codificante es independientemente un nucleótido modificado, por ejemplo, un nucleótido modificado con 2'-fluoro, un nucleótido modificado con 2'-O-metilo o un nucleótido modificado con 2'-O-alquilo.

En algunas modalidades, la cadena codificante tiene cuatro nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 7, 9, 10, 11 desde el extremo 5' de la cadena codificante. En algunas modalidades, los otros nucleótidos de la cadena codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo. En algunas modalidades, la cadena no codificante tiene cuatro nucleótidos modificados

con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 2, 6, 14, 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante. En algunas modalidades, los otros nucleótidos de la cadena no codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

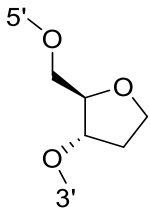
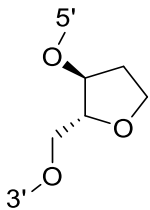
5 En algunas modalidades, la cadena codificante tiene tres nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 9, 10, 11 desde el extremo 5' de la cadena codificante. En algunas modalidades, los otros nucleótidos de la cadena codificante son nucleótidos
10 modificados con 2'-O-metilo. En algunas modalidades, la cadena no codificante tiene cinco nucleótidos modificados con 2'-fluoro, p. ej., en las posiciones 2, 5, 7, 14, 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante. En algunas modalidades, la cadena no codificante tiene cinco
15 nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 2, 5, 8, 14, 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante. En algunas modalidades, la cadena no codificante tiene cinco nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 2, 3, 7, 14, 16
20 desde el extremo 5' de la cadena no codificante. En algunas modalidades, los otros nucleótidos de la cadena no codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

 En algunas modalidades, el extremo 5' de la cadena no codificante tiene un análogo de fosfato, por
25 ejemplo, 5'-vinilfosfonato (5'-VP).

En algunas modalidades, la cadena codificante o la cadena no codificante comprende una porción abásica o una porción abásica invertida, p. ej., una porción que se muestra en la Tabla 10. En algunas modalidades, la cadena

5 codificante comprende una entidad abásica en la posición 10.

Tabla 10. Porciones abásicas o abásicas invertidas (iAb)

	Estructura
1 (abásico)	
2 (iAb)	

“5'” y “3'” indican la dirección de 5' a 3' de las secuencias.

10 En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante tienen uno o más enlaces internucleotídicos modificados. En algunas modalidades, el enlace internucleotídico modificado es un enlace fosforotioato. En algunas modalidades, la cadena codificante

15 tiene cuatro o cinco enlaces fosforotioato. En algunas modalidades, la cadena no codificante tiene cuatro o cinco enlaces fosforotioato. En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante tienen cada una cuatro o cinco enlaces fosforotioato. En algunas modalidades, la

cadena codificante tiene cuatro enlaces fosforotioato y la cadena no codificante tiene cuatro enlaces fosforotioato.

Se proporcionan en la Tabla 11a secuencias de cadena codificante y cadena no codificante modificadas
5 ilustrativas de ARNbc que se dirigen al ARNm de SNCA humano. Se proporcionan en la Tabla 11b secuencias de cadena codificante y cadena no codificante modificadas ilustrativas de ARNbc que se dirigen al ARNm de MAPT humano.

En algunas modalidades, el ARNbc comprende una
10 cadena codificante que comprende una secuencia que tiene 1, 2 o 3 diferencias de una secuencia de cadena codificante en la Tabla 9a u 11a. En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena no codificante que comprende una secuencia que tiene 1, 2 o 3 diferencias de una secuencia
15 de cadena no codificante en la Tabla 9a u 11a.

En algunas modalidades, el ARNbc comprende una cadena codificante que comprende una secuencia que tiene 1, 2 o 3 diferencias de una secuencia de cadena codificante en la Tabla 9b u 11b. En algunas modalidades, el ARNbc
20 comprende una cadena no codificante que comprende una secuencia que tiene 1, 2 o 3 diferencias de una secuencia de cadena no codificante en las Tablas 9b o 11b.

Tabla 11a: Secuencias de ácido nucleico modificadas de ARNbc dirigidas al ARNm de SNCA humano (ARNip de SNCA)

Núm. de ARNbc	Cadena	Secuencia de oligo 5' a 3'	Sec. con núm. de ident.
8	S	mC*mU*mGmUmAmCfAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA* (amino C6)	93
	AS	[VPmU]*fG*mGmAmAfCmUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	94
9	S	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA* (amino C6)	95
	AS	[VPmU]*fG*mGmAfAmCfUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	96
10	S	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA* (amino C6)	95
	AS	[VPmU]*fG*mGmAfAmCmUfGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	97
11	S	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA* (amino C6)	95
	AS	[VPmU]*fG*fGmAmAmCfUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	98
12	S	iAbmC*mU*mGmUmAmCfAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA* (amino C6)	99
	AS	[VPmU]*fG*mGmAmAfCmUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	94
13	S	mU*mG*mUmAmCmAfAmGfUfGfCmUmCmAmGmUmUmC*mA*mA* (amino C6)	100
	AS	[VPmU]*fU*mGmGmAfAmCmUmGmAmGmCmAfCmUfUmGmUmAmCmAmG*mG*mG	101
14	S	mG*mU*mGmAmCmUfAmCfCfAfCmUmUmAmUmUmUmCmU*mA*mA* (amino C6)	102
	AS	[VPmU]*fU*mAmGmAfAmAmUmAmAmGmUmGfGmUfAmGmUmCmAmC*mU*mU	103
15	S	mG*mA*mGmCmAmAfGmUfGfAfCmAmAmUmGmUmUmG*mG*mA* (amino C6)	104
	AS	[VPmU]*fC*mCmAmAfCmAmUmUmUmUmCfAmCfUmUmGmCmUmC*mU*mU	105
16	S	mA*mG*mUmGmAmCfUmAfCfCfAmCmUmUmAmUmUmUmC*mU*mA* (amino C6)	106
	AS	[VPmU]*fA*mGmAmAfAmUmAmAmGmUmGmGfUmAfGmUmCmAmCmU*mU*mA	107
17	S	iAbmA*mG*mUmGmAmCfUmAfCfCfAmCmUmUmAmUmUmUmC*mU*mA* (amino C6)	108
	AS	[VPmU]*fA*mGmAmAfAmUmAmAmGmUmGmGfUmAfGmUmCmAmCmU*mU*mA	107
18	S	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGn fGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA* (amino C6), en donde n es la entidad abásica en la Tabla 10.	117
	AS	[VPmU]*fG*mGmAfAmCmUfGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	97
19	S	mC*mU*mGmUmAmCfAmAfGn fGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA* (amino C6), en donde n es la entidad abásica en la Tabla 10.	118
	AS	[VPmU]*fG*mGmAfAmCmUfGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	97
23	S	mC*mU*mGmUmAmCfAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA	140
	AS	[VPmU]*fG*mGmAmAfCmUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	94
24	S	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA	141
	AS	[VPmU]*fG*mGmAfAmCfUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	96
25	S	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA	141
	AS	[VPmU]*fG*mGmAfAmCmUfGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	97
26	S	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA	141

	AS	[VPmU] * fG* fGmAmAmCfUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	98
27	S	iAbmC*mU*mGmUmAmCfAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmC*mC*mA	142
	AS	[VPmU] * fG*mGmAmAfCmUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	94
28	S	mU*mG*mUmAmCmAfAmGfUfGfCmUmCmAmGmUmUmC*mA*mA	143
	AS	[VPmU] * fU*mGmGmAfAmCmUmGmAmGmCmAfCmUfUmGmUmAmCmAmG*mG*mG	101
29	S	mG*mU*mGmAmCmUfAmCfCfAfCmUmUmAmUmUmUmCmU*mA*mA	144
	AS	[VPmU] * fU*mAmGmAfAmAmUmAmAmGmUmGfGmUfAmGmUmCmAmC*mU*mU	103
30	S	mG*mA*mGmCmAmAfGmUfGfAfCmAmAmAmUmGmUmUmG*mG*mA	145
	AS	[VPmU] * fC*mCmAmAfCmAmUmUmUmGmUmCfAmCfUmUmGmCmUmC*mU*mU	105
31	S	mA*mG*mUmGmAmCfUmAfCfCfAmCmUmUmAmUmUmUmC*mU*mA	146
	AS	[VPmU] * fA*mGmAmAfAmUmAmAmGmUmGmGfUmAfGmUmCmAmCmU*mU*mA	107
32	S	iAbmA*mG*mUmGmAmCfUmAfCfCfAmCmUmUmAmUmUmUmC*mU*mA	147
	AS	[VPmU] * fA*mGmAmAfAmUmAmAmGmUmGmGfUmAfGmUmCmAmCmU*mU*mA	107
33	S	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGnGfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA, en donde n es la entidad abásica en la Tabla 10.	148
	AS	[VPmU] * fG*mGmAfAmCmUfGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	97
34	S	mC*mU*mGmUmAmCfAmAfGnGfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA, en donde n es la entidad abásica en la Tabla 10.	149
	AS	[VPmU] * fG*mGmAfAmCmUfGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA	97

Abreviaturas – “m” indica 2'-OME; “f” indica 2'-fluoro; “*” indica un enlace de fosforotioato; “VP” indica 5'-vinilfosfonato; “iAb” indica la porción abásica invertida en la Tabla 10; “S” significa la cadena codificante; “AS” significa la cadena no codificante.

5

Tabla 11b. Secuencias de ácido nucleico modificadas de
ARNbc dirigidas al ARNm de MAPT humano (ARNip de MAPT)

Núm. de ARNbc	Cadena	Secuencia de oligo 5' a 3'	Sec. con núm. de ident.
35	S	mG*mU*mGmGmAmAfGmUfAfAfAmAmUmCmUmGmAmGmA*mA*mA* (amino C6)	126
	AS	[VPmU] * fU*mUmCmUfCmAmGmAmUmUmUfAmCfUmUmCmCmAmC*mC*mU	127
36	S	mC*mC*mAmAmGmUfGmUfGfGfCmUmCmAmUmUmAmGmG*mC*mA* (amino C6)	128
	AS	[VPmU] * fG*mCmCmUfAmAmUmGmAmGmCmCfAmCfAmCmUmUmGmG*mA*mG	129
37	S	mU*mG*mCmAmAmAfUmAfGfUfCmUmAmCmAmAmAmCmC*mA*mA* (amino C6)	130
	AS	[VPmU] * fU*mGmGmUfUmUmGmUmAmGmAmCfUmAfUmUmUmGmCmA*mC*mC	131
38	S	mG*mU*mGmGmAmAmGmUfAfAfAmAmUmCmUmGmAmGmA*mA*mA* (amino C6)	132
	AS	[VPmU] * fU*mUmCfUmCmAfGmAmUmUmUfAmCfUmUmCmCmAmC*mC*mU	133
39	S	mC*mC*mAmAmGmUmGmUfGfGfCmUmCmAmUmUmAmGmG*mC*mA* (amino C6)	134
	AS	[VPmU] * fG*mCmCfUmAmAfUmGmAmGmCmCfAmCfAmCmUmUmGmG*mA*mG	135
40	S	mU*mG*mCmAmAmAmUmAfGfUfCmUmAmCmAmAmAmCmC*mA*mA* (amino C6)	136

	AS	[VPmU]*fU*mGmGfUmUmUfGmUmAmGmAmCfUmAfUmUmUmGmCmA*mC*mC	137
41	S	mG*mU*mGmGmAmAfGmUfAfAfAmAmUmCmUmGmAmGmA*mA*mA	150
	AS	[VPmU]*fU*mUmCmUfCmAmGmAmUmUmUmUfAmCfUmUmCmCmA*mC*mU	127
42	S	mC*mC*mAmAmGmUfGmUfGfGfCmUmCmAmUmUmAmGmG*mC*mA	151
	AS	[VPmU]*fG*mCmCmUfAmAmUmGmAmGmCmCfAmCfAmCmUmUmGmG*mA*mG	129
43	S	mU*mG*mCmAmAmAfUmAfGfUfCmUmAmCmAmAmAmCmC*mA*mA	152
	AS	[VPmU]*fU*mGmGmUfUmUmGmUmAmGmAmCfUmAfUmUmUmGmCmA*mC*mC	131
44	S	mG*mU*mGmGmAmAmGmUfAfAfAmAmUmCmUmGmAmGmA*mA*mA	153
	AS	[VPmU]*fU*mUmCfUmCmAfGmAmUmUmUmUfAmCfUmUmCmCmA*mC*mU	133
45	S	mC*mC*mAmAmGmUmGmUfGfGfCmUmCmAmUmUmAmGmG*mC*mA	154
	AS	[VPmU]*fG*mCmCfUmAmAfUmGmAmGmCmCfAmCfAmCmUmUmGmG*mA*mG	135
46	S	mU*mG*mCmAmAmAmUmAfGfUfCmUmAmCmAmAmAmCmC*mA*mA	155
	AS	[VPmU]*fU*mGmGfUmUmUfGmUmAmGmAmCfUmAfUmUmUmGmCmA*mC*mC	137

Abreviaturas – “m” indica 2'-OMe; “f” indica 2'-fluoro; “*” indica un enlace de fosforotioato; “VP” indica 5'-vinilfosfonato; “S” significa la cadena codificante; “AS” significa la cadena no codificante.

5 En algunas modalidades, el ARNbc se dirige al ARNm de SNCA. En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena no codificante de ARNbc comprenden un par de secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que consiste en:

10 (a) la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 93 o 140, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 94;

15 (b) la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 95 o 141, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 96;

(c) la cadena codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 95 o 141, y la cadena no

- codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 97;
- 5 (d) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 95 o 141, y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 98;
- 10 (e) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 99 o 142, y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 94;
- (f) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 100 o 143 y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 101;
- 15 (g) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 102 o 144, y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 103;
- 20 (h) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 104 o 145, y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 105;
- 25 (i) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 106 o 146 y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 107;

- (j) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 108 o 147 y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 107;
- 5 (k) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 117 o 148 y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 97; y
- (l) la cadena codificante comprende la sec. con
10 núm. de ident.: 118 o 149 y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 97.
- En algunas modalidades, la cadena codificante y la
cadena no codificante de ARNbc tienen un par de secuencias
15 de ácido nucleico seleccionadas del grupo que consiste en:
- (a) la cadena codificante consiste en la sec. con
núm. de ident.: 93 o 140, y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 94;
- 20 (b) la cadena codificante consiste en la sec. con
núm. de ident.: 95 o 141, y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 96;
- (c) la cadena codificante consiste en la sec. con
25 núm. de ident.: 95 o 141, y la cadena no

- codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 97;
- 5 (d) la cadena codificante consiste en la sec. con
núm. de ident.: 95 o 141, y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 98;
- 10 (e) la cadena codificante consiste en la sec. con
núm. de ident.: 99 o 142, y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 94;
- (f) la cadena codificante consiste en la sec.
con núm. de ident.: 100 o 143, y la cadena
no codificante consiste en la sec. con núm.
de ident.: 101;
- 15 (g) la cadena codificante consiste en la sec. con
núm. de ident.: 102 o 144 y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 103;
- 20 (h) la cadena codificante consiste en la sec. con
núm. de ident.: 104 o 145 y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 105;
- 25 (i) la cadena codificante consiste en la sec. con
núm. de ident.: 106 o 146 y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 107;

- (j) la cadena codificante consiste en la sec. con
núm. de ident.: 108 o 147 y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 107;
- 5 (k) la cadena codificante consiste en la sec. con
núm. de ident.: 117 o 148 y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 97; y
- (l) la cadena codificante consiste en la sec. con
10 núm. de ident.: 118 o 149 y la cadena no
codificante consiste en la sec. con núm. de
ident.: 97.

En algunas modalidades, el ARNbc se dirige al ARNm
de MAPT. En algunas modalidades, la cadena codificante y la
15 cadena no codificante de ARNbc comprenden un par de
secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que
consiste en:

- (a) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 126 o 150, y la cadena no
20 codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 127;
- (b) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 128 o 151, y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
25 ident.: 129;

- (c) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 130 o 152, y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 131;
- 5 (d) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 132 o 153, y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 133;
- (e) la cadena codificante comprende la sec. con
10 núm. de ident.: 134 o 154, y la cadena no
codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 135; y
- (f) la cadena codificante comprende la sec. con
núm. de ident.: 136 o 155, y la cadena no
15 codificante comprende la sec. con núm. de
ident.: 137.

En algunas modalidades, la cadena codificante y la
cadena no codificante de ARNbc tienen un par de secuencias
de ácido nucleico seleccionadas del grupo que consiste en:

- 20 (a) la cadena codificante consiste en la sec.
con núm. de ident.: 126 o 150, y la cadena
no codificante consiste en la sec. con núm.
de ident.: 127;
- (b) la cadena codificante consiste en la sec.
25 con núm. de ident.: 128 o 151, y la cadena

no codificante consiste en la sec. con núm.
de ident.: 129;

5 (c) la cadena codificante consiste en la sec.
con núm. de ident.: 130 o 152, y la cadena
no codificante consiste en la sec. con núm.
de ident.: 131;

10 (d) la cadena codificante consiste en la sec.
con núm. de ident.: 132 o 153, y la cadena
no codificante consiste en la sec. con núm.
de ident.: 133;

(e) la cadena codificante consiste en la sec.
con núm. de ident.: 134 o 154, y la cadena
no codificante consiste en la sec. con núm.
de ident.: 135; y

15 (f) la cadena codificante consiste en la sec.
con núm. de ident.: 136 o 155, y la cadena
no codificante consiste en la sec. con núm.
de ident.: 137.

La cadena codificante y la cadena no codificante
20 del ARN_{bc} se pueden sintetizar usando de cualquier método de
polimerización de ácidos nucleicos conocido en la técnica,
por ejemplo, síntesis en fase sólida empleando la metodología
química de fosforamidita (p. ej., Current Protocols in
Nucleic Acid Chemistry, Beaucage, S.L. et al. (Edrs.), John
25 Wiley & Sons, Inc., Nueva York, NY, EE. UU.), H-fosfonato,
química de fosforotriéster o síntesis enzimática. Se pueden

usar sintetizadores comerciales automatizados, por ejemplo, MerMade™ 12 de LGC Biosearch Technologies, u otros sintetizadores de BioAutomation o Applied Biosystems. Los enlaces de fosforotioato se pueden introducir usando un reactivo sulfurante, tal como disulfuro de fenilacetilo o DDTT (((dimetilaminometiliden) amino)-3H-I,2,4-ditiazolina-3-tiona). Se conoce bien el uso de técnicas similares y amiditas modificadas disponibles en el mercado y productos de vidrio de poro controlado (CPG) para sintetizar oligonucleótidos modificados u oligonucleótidos conjugados.

Pueden usarse métodos de purificación para excluir las impurezas no deseadas del producto oligonucleotídico final. Las técnicas de purificación comúnmente utilizadas para oligonucleótidos monocatenarios incluyen cromatografía líquida de alto rendimiento de par iónico de fase inversa (RP-IP-HPLC), electroforesis en gel capilar (CGE), HPLC de intercambio aniónico (AX-HPLC) y cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Después de la purificación, los oligonucleótidos pueden analizarse mediante espectrometría de masas y cuantificarse mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 260 nm. Después, la cadena codificante y la cadena no codificante se pueden hibridar para formar un ARNbc.

25 Composiciones farmacéuticas

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de las proteínas o conjugados de unión a TfR humanos descritos en la presente y un portador farmacéuticamente aceptable. Tales composiciones farmacéuticas también pueden comprender uno o más excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante métodos bien conocidos en la técnica (p. ej., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 23ra edición (2020), A. Loyd et al., Academic Press).

Método de tratamiento y uso terapéutico

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan métodos para tratar una enfermedad del SNC, p. ej., una enfermedad neurodegenerativa, en un paciente que lo necesita, y tal método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de la proteína o conjugado de unión a TfR humano o una composición farmacéutica descrita en la presente.

En un aspecto adicional, en la presente descripción se proporcionan métodos para tratar una sinucleinopatía neurodegenerativa en un paciente que lo necesita, y tal método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de las proteínas o conjugado de unión a TfR humano o una composición farmacéutica descrita en la

presente, p. ej., un conjugado de ARNip de TBP-SNCA descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende tal conjugado de ARNip de TBP-SNCA. La sinucleinopatía neurodegenerativa ilustrativa incluye, pero no se limita a, enfermedad de Parkinson; atrofia multisistémica; demencia con cuerpo de Lewy o demencia con cuerpos de Lewy; falla autonómica pura; enfermedad de Alzheimer; disfagia con cuerpos de Lewy; y la enfermedad de cuerpos de Lewy incidental. En algunas modalidades, la sinucleinopatía neurodegenerativa se selecciona de la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, atrofia multisistémica o demencia con cuerpos de Lewy. La proteína o conjugado de unión a TfR humano o una composición farmacéutica se puede administrar al paciente por vía intravenosa o subcutánea.

En un aspecto adicional, en la presente descripción se proporcionan métodos para tratar una tauopatía en un paciente que lo necesita, y tal método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de las proteínas o conjugado de unión a TfR humano o una composición farmacéutica descrita en la presente, p. ej., un conjugado de ARNip de TBP-MAPT descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende tal conjugado de ARNip de TBP-MAPT. Una tauopatía ilustrativa incluye, pero no se limita a, enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (FTD), demencia frontotemporal con parkinsonismo unido al cromosoma 17 (FTDP-17),

degeneración lobar frontotemporal (FTLD), demencia frontotemporal variante conductual (bvFTD), afasia progresiva primaria variante no fluida (nfvPPA), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick (PiD), afasia
5 progresiva primaria de variante semántica (PPA-S), afasia progresiva primaria de variante logopénica (PPA-L), tauopatía multisistémica con demencia presenil (MSTD), demencia con ovillos neurofibrilares (NFT), FTD con enfermedad de la motoneurona, parálisis supranuclear
10 progresiva (PSP), complejo de esclerosis lateral amiotrófica/parkinsonismo-demencia (ALS-PDC), demencia argirofílica granulosa (AGD), angiopatía amiloide de tipo británico, angiopatía amiloide cerebral, encefalopatía traumática crónica (CTE), degeneración corticobasal (CBD),
15 enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, epilepsia, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, enfermedad de Hallervorden-Spatz, enfermedad de Huntington, miositis con
20 cuerpos de inclusión, encefalopatía por plomo, enfermedad de Lytico-Bodig, meningioangiomatosis, atrofia multisistémica, distrofia miotónica, enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NP-C), enfermedad de la motoneurona no guamaniana con ovillos neurofibrilares, parkinsonismo
25 posencefalítico, angiopatía amiloide cerebral por proteína priónica, gliosis subcortical progresiva, demencia solo

por ovillos, demencia con predominio de ovillos, ganglioglioma, gangliocitoma, encefalitis esclerosante subaguda, esclerosis tuberosa, lipofuscinosis, tauopatía primaria relacionada con la edad (PART) o tauopatías globulares gliales (GGT). La proteína o conjugado de unión a TfR humano o una composición farmacéutica se puede administrar al paciente por vía intravenosa o subcutánea.

Los regímenes de dosificación de proteínas o conjugados de unión a TfR humano pueden ajustarse para proporcionar la respuesta óptima deseada (p. ej., una respuesta terapéutica). Por ejemplo, se puede administrar un solo bolo, se pueden administrar varias dosis divididas a lo largo del tiempo, o la dosis se puede reducir o aumentar proporcionalmente, según indiquen las exigencias de la situación terapéutica.

Los valores de dosificación pueden variar según el tipo y la gravedad de la afección a aliviar. Se entiende además que para cualquier sujeto en particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse con el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones.

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan proteínas o conjugados de unión a TfR humanos descritos en la presente o composiciones farmacéuticas que comprenden tales proteínas o conjugados de unión a TfR

humanos para usar en una terapia. También se proporcionan en la presente descripción proteínas o conjugados de unión a TfR humanos descritos en la presente o composiciones farmacéuticas que comprenden tales proteínas o conjugados de unión a TfR humanos (p. ej., un conjugado de ARNip de TBP-SNCA descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende tal conjugado de ARNip de TBP-SNCA) para usar en el tratamiento de una sinucleinopatía neurodegenerativa, p. ej., la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, atrofia multisistémica o demencia de cuerpos de Lewy.

También se proporcionan en la presente descripción proteínas o conjugados de unión a TfR humanos descritos en la presente o composiciones farmacéuticas que comprenden tales proteínas o conjugados de unión a TfR humanos (p. ej., un conjugado de ARNip de TBP-SNCA descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende tal conjugado de ARNip de TBP-SNCA) para usar en el tratamiento de una tauopatía, p. ej., enfermedad de Alzheimer (EA), demencia frontotemporal (FTD), demencia frontotemporal con parkinsonismo unido al cromosoma 17 (FTDP-17), degeneración lobar frontotemporal (FTLD), demencia frontotemporal variante conductual (bvFTD), afasia progresiva primaria variante no fluida (nfvPPA), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick (PiD), afasia progresiva primaria de variante semántica (PPA-S), afasia progresiva primaria de variante logopénica (PPA-L), tauopatía multisistémica con

demencia presenil (MSTD), demencia con ovillos neurofibrilares (NFT), FTD con enfermedad de la motoneurona, parálisis supranuclear progresiva (PSP), complejo de esclerosis lateral amiotrófica/parkinsonismo-demencia (ALS-PDC), demencia argirofílica granulosa (AGD), angiopatía amiloide de tipo británico, angiopatía amiloide cerebral, encefalopatía traumática crónica (CTE), degeneración corticobasal (CBD), enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, epilepsia, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, enfermedad de Hallervorden-Spatz, enfermedad de Huntington, miositis con cuerpos de inclusión, encefalopatía por plomo, enfermedad de Lytico-Bodig, meningioangiomatosis, atrofia multisistémica, distrofia miotónica, enfermedad de Niemann-Pick de tipo C (NP-C), enfermedad de la motoneurona no guamaniana con ovillos neurofibrilares, parkinsonismo posencefalítico, angiopatía amiloide cerebral por proteína priónica, gliosis subcortical progresiva, demencia solo por ovillos, demencia con predominio de ovillos, ganglioglioma, gangliocitoma, encefalitis esclerosante subaguda, esclerosis tuberosa, lipofuscinosis, tauopatía primaria relacionada con la edad (PART) o tauopatías globulares gliales (GGT).

En otro aspecto, en la presente descripción se proporcionan usos de proteínas o conjugados de unión a TfR humanos descritos en la presente en la fabricación de un

medicamento para tratar una enfermedad del SNC, p. ej., una enfermedad neurodegenerativa. En algunas modalidades, la enfermedad neurodegenerativa es una sinucleinopatía neurodegenerativa, p. ej., la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, atrofia de multisistémica o demencia de cuerpos de Lewy. En algunas modalidades, la enfermedad degenerativa es una tauopatía, p. ej., enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (FTD), demencia frontotemporal con parkinsonismo unido al cromosoma 17 (FTDP-17), degeneración lobar frontotemporal (FTLD), demencia frontotemporal variante conductual (bvFTD), afasia progresiva primaria variante no fluida (nfvPPA), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick (PiD), afasia progresiva primaria de variante semántica (PPA-S), afasia progresiva primaria de variante logopénica (PPA-L), tauopatía multisistémica con demencia presenil (MSTD), demencia con ovillos neurofibrilares (NFT), FTD con enfermedad de la motoneurona, parálisis supranuclear progresiva (PSP), complejo de esclerosis lateral amiotrófica/parkinsonismo-demencia (ALS-PDC), demencia argirofílica granulosa (AGD), angiopatía amiloide de tipo británico, angiopatía amiloide cerebral, encefalopatía traumática crónica (CTE), degeneración corticobasal (CBD), enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, epilepsia, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, enfermedad de

Hallervorden-Spatz, enfermedad de Huntington, miositis con
cuerpos de inclusión, encefalopatía por plomo, enfermedad de
Lytico-Bodig, meningioangiomatosis, atrofia multisistémica,
distrofia miotónica, enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NP-
5 C), enfermedad de la motoneurona no guamaniana con ovillos
neurofibrilares, parkinsonismo posencefalítico, angiopatía
amiloide cerebral por proteína priónica, gliosis subcortical
progresiva, demencia solo por ovillos, demencia con
predominio de ovillos, ganglioglioma, gangliocitoma,
10 encefalitis esclerosante subaguda, esclerosis tuberosa,
lipofuscinosis, tauopatía primaria relacionada con la edad
(PART) o tauopatías globulares gliales (GGT).

Definiciones

15 Como se usa en la presente descripción, los
términos “un”, “una”, “el/la” y términos similares usados
en el contexto de la presente descripción (especialmente
en el contexto de las reivindicaciones) deben
interpretarse como que cubren tanto el singular como el
20 plural, a menos que se indique lo contrario en la presente
descripción o se contradiga claramente por el contexto.

 Como se usa en la presente descripción, el término
“alquilo” significa un radical hidrocarbonado monovalente
saturado de cadena lineal o ramificada, que contiene el
25 número indicado de átomos de carbono. Por ejemplo, “alquilo

C₁-C₂₀” significa un radical que tiene de 1 a 20 átomos de carbono en una disposición lineal o ramificada.

El término “anticuerpo”, como se usa en la presente descripción, se refiere a una molécula que se une a un
5 antígeno. Las modalidades de un anticuerpo incluyen un anticuerpo monoclonal, anticuerpo policlonal, anticuerpo humano, anticuerpo humanizado, anticuerpo quimérico, anticuerpo heterodimérico, anticuerpo biespecífico o multiespecífico o anticuerpo conjugado. Los anticuerpos
10 pueden ser de cualquier clase (p. ej., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA) y cualquier subclase (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4).

Un anticuerpo de tipo inmunoglobulina G (IgG) compuesto por cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas pesadas (HC) y dos cadenas ligeras (LC) que se entrecruzan
15 mediante enlaces disulfuro entre cadenas. La porción amino terminal de cada una de las cuatro cadenas polipeptídicas incluye una región variable de aproximadamente 100-125 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento antigénico. La porción carboxilo terminal de cada una de las
20 cuatro cadenas polipeptídicas contiene una región constante principalmente responsable de la función efectora. Cada cadena pesada está compuesta por una región variable de la cadena pesada (VH) y una región constante de la cadena pesada. Cada cadena ligera se compone por una región
25 variable de cadena ligera (VL) y una región constante de

cadena ligera. El isotipo IgG puede dividirse adicionalmente en subclases (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4).

Las regiones VH y VL se pueden subdividir adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que son más conservadas, llamadas regiones marco (FR). Las CDR están expuestas en la superficie de la proteína y son regiones importantes del anticuerpo para la especificidad de unión al antígeno.

Cada VH y VL se compone por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En la presente descripción, las tres CDR de la cadena pesada se denominan “HCDR1, HCDR2 y HCDR3”, y las tres CDR de la cadena ligera se denominan “LCDR1, LCDR2 y LCDR3”. Las CDR contienen la mayoría de los residuos que forman interacciones específicas con el antígeno. La asignación de residuos de aminoácidos a las CDR puede realizarse de acuerdo con esquemas bien conocidos, incluidos los descritos en Kabat (Kabat et al., “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)), Chothia (Chothia et al., “Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins”, Journal of Molecular Biology, 196, 901-917 (1987); Al-Lazikani et

al., “Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins”, *Journal of Molecular Biology*, 273, 927-948 (1997)), North (North et al., “A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations”, *Journal of Molecular Biology*, 406, 228-256 (2011)), o IMGT (la base de datos ImMunoGeneTics internacional disponible en www.imgt.org; ver Lefranc et al., *Nucleic Acids Res.* 1999; 27:209-212).

Las modalidades de la presente descripción también incluyen fragmentos de anticuerpo o fragmentos de unión al antígeno que, como se usa en la presente descripción, comprenden al menos una porción de un anticuerpo que retiene la capacidad de interactuar específicamente con un antígeno o un epítipo del antígeno, tales como fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, fragmentos de anticuerpo scFv, scFab, Fv unidos por disulfuro (sdFv), un fragmento Fd.

El término “dominio de unión al antígeno”, como se usa en la presente descripción, se refiere a una porción de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a un antígeno o un epítipo del antígeno. Por ejemplo, “Dominio de unión a TfR” se refiere a una porción de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a TfR o un epítipo de TfR.

El término “anticuerpo heterodimérico”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un anticuerpo que comprende dos dominios de unión al antígeno distintos.

Como se usa en la presente descripción, “cadena no codificante” significa un oligonucleótido monocatenario que es complementario a una región de una secuencia diana. Asimismo, y como se usa en la presente descripción, “cadena
5 codificante” significa un oligonucleótido monocatenario que es complementario a una región de una cadena no codificante.

Los términos “unir” y “une” como se usan en la presente descripción pretenden significar, a menos que se indique lo contrario, la capacidad de una proteína o molécula
10 para formar un enlace químico o una interacción atractiva con otra proteína o molécula, lo que da como resultado la proximidad de las dos proteínas o moléculas según se determina por métodos comunes conocidos en la técnica.

Como se usa en la presente descripción,
15 “complementario” se refiere a una relación estructural entre dos nucleótidos (por ejemplo, en dos ácidos nucleicos opuestos o en regiones opuestas de una sola cadena de ácido nucleico, por ejemplo, una horquilla) que permite que los dos nucleótidos formen pares de bases entre sí. Por ejemplo,
20 un nucleótido de purina de un ácido nucleico que es complementario a un nucleótido de pirimidina de un ácido nucleico opuesto pueden aparearse mediante la formación de enlaces de hidrógeno entre sí. Los nucleótidos complementarios pueden aparearse a la manera de Watson-Crick
25 o de cualquier otra manera que permita la formación de

híbridos estables. Asimismo, dos ácidos nucleicos pueden tener regiones de múltiples nucleótidos que son complementarios entre sí para formar regiones de complementariedad, como se describe en la presente.

5 Como se usa en la presente descripción, “híbrido”, en referencia a ácidos nucleicos u oligonucleótidos, significa una estructura formada a través del apareamiento de bases complementarias de dos secuencias antiparalelas de nucleótidos (es decir, en
10 direcciones opuestas), ya sea formada por dos cadenas de ácido nucleico separadas o por una sola cadena plegada (por ejemplo, a través de una horquilla).

Una “cantidad efectiva” se refiere a una cantidad necesaria (durante períodos de tiempo y por los medios de
15 administración) para lograr el resultado terapéutico deseado. Una cantidad efectiva de una proteína o conjugado puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad de la proteína o conjugado para provocar
20 una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad efectiva también es aquella en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de la proteína o conjugado se ve compensado por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

Como se menciona en la presente descripción, el
25 término “epítipo” se refiere a los residuos de aminoácidos, de un antígeno, que están unidos por un anticuerpo. Un

epítopo puede ser un epítopo lineal, un epítopo conformacional o un epítopo híbrido. El término “epítopo” puede usarse en referencia a un epítopo estructural. Un epítopo estructural, de acuerdo con algunas modalidades, puede usarse para describir la región de un antígeno que se cubre por un anticuerpo o proteína de unión al antígeno. En algunas modalidades, un epítopo estructural puede describir los residuos de aminoácidos del antígeno que están dentro de una proximidad específica (p. ej., dentro de un número específico de Angstroms) de un residuo de aminoácido del anticuerpo o la proteína de unión al antígeno. El término “epítopo” también puede usarse en referencia a un epítopo funcional. Un epítopo funcional, de acuerdo con algunas modalidades, puede usarse para describir residuos de aminoácidos del antígeno que interactúan con residuos de aminoácidos del anticuerpo o proteína de unión al antígeno de una manera que contribuye a la energía de unión entre el antígeno y el anticuerpo o la proteína de unión al antígeno.

Puede determinarse un epítopo de acuerdo con diferentes técnicas experimentales, también denominadas “técnicas de mapeo de epítopos”. Se entiende que la determinación de un epítopo puede variar según las diferentes técnicas de mapeo de epítopos usadas y también puede variar basada en las diferentes condiciones experimentales usadas, p. ej., debido a los cambios conformacionales o escisiones del antígeno inducidas por condiciones experimentales

específicas. Las técnicas de mapeo de epítomos son conocidas en la técnica (p. ej., Rockberg and Nilvebrant, *Epitope Mapping Protocols: Methods in Molecular Biology*, Humana Press, 3.^a ed. 2018), que incluye, pero no se limita a, 5 cristalografía de rayos X, espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR, por sus siglas en inglés), mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis de intercambio de especies, mutagénesis de exploración con alanina, intercambio de hidrógeno-deuterio (HDX) y ensayos de bloqueo cruzado.

10 El término “región Fc”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un polipéptido que comprende los dominios CH2 y CH3 de una región constante de una inmunoglobulina, p. ej., IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Opcionalmente, la región Fc puede incluir una porción de la 15 región bisagra o la región bisagra completa de una inmunoglobulina, p. ej., IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG humana, p. ej., una región Fc de IgG1 humana, una región Fc de IgG2 humana, una región Fc de IgG3 humana o una región Fc de IgG4 20 humana. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG modificada con funciones efectoras reducidas o eliminadas en comparación con la región Fc de IgG silvestre correspondiente. La numeración de los residuos en la región Fc se basa en el índice EU descrito en Kabat (Kabat et al, 25 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ta edición, Bethesda, MD: U.S. Dept. of Health and Human

Services, Public Health Service, National Institutes of Health, 1991). Los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina pueden variar, y la región Fc de la cadena pesada de IgG humana se define generalmente como
5 el tramo desde el extremo N terminal del dominio CH2 (p. ej., el residuo de aminoácido en la posición 231 de acuerdo con la numeración del índice EU) al extremo C terminal del dominio CH3 (o el extremo C terminal de la inmunoglobulina).

El término “disminución” o “disminución de la
10 expresión” se refiere a la expresión reducida de ARNm o proteína de un gen después del tratamiento de un reactivo.

Como se usa en la presente descripción, “enlace internucleotídico modificado” significa un enlace internucleotídico que tiene una o más modificaciones
15 químicas en comparación con un enlace internucleotídico de referencia que tiene un enlace fosfodiéster. Un enlace internucleotídico modificado puede ser un enlace de origen no natural. En algunas modalidades, el enlace internucleotídico modificado es un enlace fosforotioato.

20 Como se usa en la presente descripción, “nucleótido modificado” se refiere a un nucleótido que tiene una o más modificaciones químicas en comparación con un nucleótido de referencia correspondiente seleccionado entre: ribonucleótido de adenina, ribonucleótido de
25 guanina, ribonucleótido de citosina, ribonucleótido de

uracilo, desoxirribonucleótido de adenina, desoxirribonucleótido de guanina, desoxirribonucleótido de citosina y desoxirribonucleótido de timidina. Un nucleótido modificado puede tener, por ejemplo, una o más modificaciones químicas en su azúcar, nucleobase y/o grupo fosfato. Adicional o alternativamente, un nucleótido modificado puede tener uno o más restos químicos conjugados con un nucleótido de referencia correspondiente. En algunas modalidades, el nucleótido modificado es un nucleótido modificado con 2'-fluoro, un nucleótido modificado con 2'-O-metilo o un nucleótido modificado con 2'-O-alquilo. En algunas modalidades, el nucleótido modificado tiene un análogo de fosfato, por ejemplo, 5'-vinilfosfonato. En algunas modalidades, el nucleótido modificado tiene una porción abásica o una porción abásica invertida, p. ej., una porción que se muestra en la Tabla 10.

Como se usa en la presente descripción, el término “sinucleinopatía neurodegenerativa” se refiere a un trastorno neurodegenerativo caracterizado por agregados fibrilares de proteína alfa-sinucleína en el citoplasma de poblaciones selectivas de neuronas y glía en los sistemas nerviosos centrales y/o periféricos.

Como se usa en la presente descripción, “nucleótido” significa un compuesto orgánico que tiene un nucleósido (una nucleobase, por ejemplo, adenina, citosina, guanina, timina o uracilo, y un azúcar pentosa,

por ejemplo, ribosa o 2'-desoxirribosa) unido a un grupo fosfato. Un “nucleótido” puede servir como unidad monomérica de polímeros de ácido nucleico tal como el ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN).

5 Como se usa en la presente descripción, un “brazo nulo” significa un brazo de anticuerpo que no se une a ninguna diana humana conocida.

 Como se usa en la presente descripción, “oligonucleótido” significa un polímero de nucleótidos
10 enlazados, cada uno de los cuales puede estar modificado o no. Un oligonucleótido tiene típicamente menos de aproximadamente 100 nucleótidos de longitud.

 Como se usa en la presente descripción, “extremo no apareado” se refiere al nucleótido o nucleótidos
15 desapareados que sobresalen de la estructura híbrida de un oligonucleótido bicatenario. Un extremo no apareado puede incluir uno o más nucleótidos desapareados que se extienden desde una región híbrida en el extremo 5' o el extremo 3' de un oligonucleótido bicatenario. El extremo no apareado
20 puede ser un extremo no apareado en 3' o 5' en la cadena no codificante o la cadena codificante de un oligonucleótido bicatenario.

 El término “paciente”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un paciente humano.

Como se usa en la presente descripción, “análogo de fosfato” significa 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 terminal 5' de un oligonucleótido en lugar de un 5'-fosfato, que a menudo es susceptible a la eliminación enzimática. Un análogo de 5'-fosfato puede incluir un enlace resistente a fosfatasa. Los ejemplos de análogos de fosfato incluyen 5' metileno fosfonato (5'-MP) y 5'-(E)-vinilfosfonato (5'-VP). En algunas modalidades, el análogo de fosfato es 5'-VP.

El término “% de identidad de secuencia” o “porcentaje de identidad de secuencia” con respecto a una secuencia de ácido nucleico de referencia se define como el porcentaje de nucleótidos, nucleósidos o nucleobases en una secuencia candidata que son idénticos a los nucleótidos, nucleósidos o nucleobases en la secuencia de ácido nucleico de referencia, después de alinear las secuencias de manera óptima e introducir espacios o extremos no apareados, si es necesario, para lograr el por ciento máximo de identidad de secuencia. El alineamiento con el fin de determinar el por ciento de identidad de secuencia del ácido nucleico se puede lograr de varias maneras que están dentro de la habilidades en la técnica, por ejemplo, usando programas informáticos disponibles públicamente, por ejemplo, los descritos en Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds.,

1987, Supp. 30, sección 7.7.18, Tabla 7.7.1), y que incluyen el programa informático BLAST, BLAST-2, ALIGN, Megalign (DNASTAR), Clustal W2.0 o Clustal X2.0. Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para medir el alineamiento, incluidos los algoritmos necesarios para lograr el máximo alineamiento en toda la longitud de las secuencias que se comparan. El porcentaje de “identidad de secuencia” se puede determinar mediante la comparación de dos secuencias alineadas de manera óptima en una ventana de comparación, donde el fragmento de la secuencia de ácido nucleico en la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (p. ej., espacios o extremos no apareados) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o eliminaciones) para un alineamiento óptimo de las dos secuencias. El porcentaje se puede calcular mediante la determinación del número de posiciones en las que aparece el mismo nucleótido, nucleósido o nucleobase en ambas secuencias para obtener el número de posiciones coincidentes, dividir el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación, y multiplicar el resultado por 100 para obtener el porcentaje de identidad de secuencia. El resultado es el por ciento de identidad de la secuencia de interés con respecto a la secuencia de consulta.

El término “polipéptido” o “proteína”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un polímero

de residuos de aminoácidos. El término se aplica a polímeros que comprenden aminoácidos naturales y polímeros que comprenden uno o más aminoácidos no naturales.

Como se usa en la presente descripción, “cadena” se refiere a una sola secuencia contigua de nucleótidos unidos entre sí a través de enlaces internucleotídicos (por ejemplo, enlaces fosfodiéster o enlaces fosforotioato). Una cadena puede tener dos extremos libres (por ejemplo, un extremo 5' y un extremo 3').

Como se usa en la presente descripción, “SNCA” se refiere a un ARNm, proteína o polipéptido de alfa-sinucleína (SNCA). La secuencia de ácido nucleico de un transcrito de ARNm de SNCA humano puede encontrarse en NM_000345.4:

```
1  GGCGACGACC AGAAGGGGCC CAAGAGAGGG GGCGAGCGAC CGAGCGCCGC GACGCGGAAG
15  61  TGAGGTGCGT GCGGGCTGCA GCGCAGACCC CGGCCCCGCC CCTCCGAGAG CGTCCTGGGC
    121 GCTCCCTCAC GCCTTGCCTT CAAGCCTTCT GCCTTTCCAC CCTCGTGAGC GGAGAACTGG
    181 GAGTGGCCAT TCGACGACAG TGTGGTGTAA AGGAATTCAT TAGCCATGGA TGTATTCATG
    241 AAAGGACTTT CAAAGGCCAA GGAGGGAGTT GTGGCTGCTG CTGAGAAAAC CAAACAGGGT
    301 GTGGCAGAAG CAGCAGGAAA GACAAAAGAG GGTGTTCTCT ATGTAGGCTC CAAAACCAAG
20  361 GAGGGAGTGG TGCATGGTGT GGCAACAGTG GCTGAGAAGA CCAAAGAGCA AGTGACAAAT
    421 GTTGGAGGAG CAGTGGTGAC GGGTGTGACA GCAGTAGCCC AGAAGACAGT GGAGGGAGCA
    481 GGGAGCATTG CAGCAGCCAC TGGCTTTGTC AAAAAGGACC AGTTGGGCAA GAATGAAGAA
    541 GGAGCCCCAC AGGAAGGAAT TCTGGAAGAT ATGCCTGTGG ATCCTGACAA TGAGGCTTAT
    601 GAAATGCCTT CTGAGGAAGG GTATCAAGAC TACGAACCTG AAGCCTAAGA AATATCTTTG
25  661 CTCCAGTTT CTTGAGATCT GCTGACAGAT GTTCCATCCT GTACAAGTGC TCAGTTCCAA
    721 TGTGCCCAGT CATGACATTT CTCAAAGTTT TTACAGTGTA TCTCGAAGTC TTCCATCAGC
    781 AGTGATTGAA GTATCTGTAC CTGCCCCCAG TCAGCATTTT GGTGCTTCCC TTTCACTGAA
    841 GTGAATACAT GGTAGCAGGG TCTTTGTGTG CTGTGGATTT TGTGGCTTCA ATCTACGATG
```

901 TTAAAACAAA TTAAAACAC CTAAGTGA CTAACTTATT TCTAAATCCT CACTATTTTT
 961 TTGTTGCTGT TGTTCAAGAG TTGTTAGTGA TTTGCTATCA TATATTATAA GATTTTTAGG
 1021 TGTCTTTTAA TGATACTGTC TAAGAATAAT GACGTATTGT GAAATTTGTT AATATATATA
 1081 ATACTTAAAA ATATGTGAGC ATGAAACTAT GCACCTATAA ATACTAAATA TGAAATTTTA
 5 1141 CCATTTTGCG ATGTGTTTTA TTCACTTGTG TTTGTATATA AATGGTGAGA ATTAAAATAA
 1201 AACGTTATCT CATTGCAAAA ATATTTTATT TTTATCCCAT CTCACTTTAA TAATAAAAAAT
 1261 CATGCTTATA AGCAACATGA ATTAAGAACT GACACAAAGG AAAAAATAT AAAGTTATTA
 1321 ATAGCCATTT GAAGAAGGAG GAATTTTAGA AGAGGTAGAG AAAATGGAAC ATTAACCCTA
 1381 CACTCGGAAT TCCCTGAAGC AACACTGCCA GAAGTGTGTT TTGGTATGCA CTGGTTCCTT
 10 1441 AAGTGGCTGT GATTAATTAT TGAAAGTGGG GTGTTGAAGA CCCCAACTAC TATTGTAGAG
 1501 TGGTCTATTT CTCCCTTCAA TCCTGTCAAT GTTTGCTTTA CGTATTTTGG GGAAGTGTG
 1561 TTTGATGTGT ATGTGTTTAT AATTGTTATA CATTTTTAAT TGAGCCTTTT ATTAACATAT
 1621 ATTGTTATTT TTGTCTCGAA ATAATTTTTT AGTTAAAATC TATTTTGTCT GATATTGGTG
 1681 TGAATGCTGT ACCTTTCTGA CAATAAATAA TATTCGACCA TGAATAAAAA AAAAAAAAAA
 15 1741 GTGGGTCCC GGAAGTAAG CAGTGTAGAA GATGATTTTG ACTACACCCT CCTTAGAGAG
 1801 CCATAAGACA CATTAGACA TATTAGACA TTCAAGGCTC TGAGAGAATG TGGTTAACTT
 1861 TGTTTAACTC AGCATTCCTC ACTTTTTTTT TTTAATCATC AGAAATTCTC TCTCTCTCTC
 1921 TCTCTTTTTC TCTCGCTCTC TTTTTTTTTT TTTTTTTACA GGAAATGCCT TTAAACATCG
 1981 TTGGAAGTAC CAGAGTCACC TTAAAGGAGA TCAATTCTCT AGACTGATAA AAATTTTCATG
 20 2041 GCCTCCTTTA AATGTTGCCA AATATATGAA TTCTAGGATT TTCCTTAGG AAAGGTTTTT
 2101 CTCTTTCAGG GAAGATCTAT TAACTCCCCA TGGGTGCTGA AAATAAACTT GATGGTGAAA
 2161 AACTCTGTAT AAATTAATTT AAAAATTATT TGGTTTCTCT TTTTAATTAT TCTGGGGCAT
 2221 AGTCATTTCT AAAAGTCACT AGTAGAAAGT ATAATTTCAA GACAGAATAT TCTAGACATG
 2281 CTAGCAGTTT ATATGTATTC ATGAGTAATG TGATATATAT TGGGCGCTGG TGAGGAAGGA
 25 2341 AGGAGGAATG AGTGAATAA AGGATGGTTA CCATAGAAAC TTCCTTTTTT ACCTAATTGA
 2401 AGAGAGACTA CTACAGAGTG CTAAGCTGCA TGTGTCATCT TACTAGAG AGAAATGGTA
 2461 AGTTTCTTGT TTTATTTAAG TTATGTTTAA GCAAGGAAAG GATTTGTTAT TGAACAGTAT
 2521 ATTTTCAGGAA GGTTAGAAAG TGGCGGTTAG GATATATTTT AAATCTACCT AAAGCAGCAT
 2581 ATTTTAAAAA TTTAAAAGTA TTGGTATTAA ATTAAGAAAT AGAGGACAGA ACTAGACTGA
 30 2641 TAGCAGTGAC CTAGAACAAT TTGAGATTAG GAAAGTTGTG ACCATGAATT TAAGGATTTA
 2701 TGTGGATACA AATTCTCCTT TAAAGTGTTT CTTCCCTTAA TATTTATCTG ACGGTAATTT

2761 TTGAGCAGTG AATTACTTTA TATATCTTAA TAGTTTATTT GGGACCAAAC ACTTAAACAA
 2821 AAAGTTCTTT AAGTCATATA AGCCTTTTCA GGAAGCTTGT CTCATATTCA CTCCCGAGAC
 2881 ATTCACCTGC CAAGTGGCCT GAGGATCAAT CCAGTCCTAG GTTTATTTTG CAGACTTACA
 2941 TTCTCCCAAG TTATTCAGCC TCATATGACT CCACGGTCGG CTTTACCAAA ACAGTTCAGA
 5 3001 GTGCACTTTG GCACACAATT GGGAACAGAA CAATCTAATG TGTGGTTTGG TATTCCAAGT
 3061 GGGGTCTTTT TCAGAATCTC TGCACTAGTG TGAGATGCAA ACATGTTTCC TCATCTTTCT
 3121 GGCTTATCCA GTATGTAGCT ATTTGTGACA TAATAAATAT ATACATATAT GAAAATA
 (sec. con núm. de ident.: 109).

La secuencia de aminoácidos de una proteína SNCA
 10 humana se puede encontrar en NP_000336.1:

1 MDVFMKGLSK AKEGVVAAAE KTKQGVAEAA GKTKEGVLYV GSKTKEGVVH GVATVAEKT
 61 EQVTNVGGAV VTGVTAVAQK TVEGAGSIAA ATGFVKKDQL GKNEEGAPQE GILEDMPVDP
 121 DNEAYEMPSE EGYQDYEPEA (sec. con núm. de ident.: 110).

La secuencia de ácido nucleico de un transcrito de
 15 ARNm de SNCA de ratón se puede encontrar en NM_001042451.2;
 y la secuencia de aminoácidos de una proteína SNCA de ratón
 se puede encontrar en NP_001035916.1. La secuencia de ácido
 nucleico de un transcrito de ARNm de SNCA de rata se puede
 encontrar en NM_019169.3; y la secuencia de aminoácidos de
 20 una proteína SNCA de rata se puede encontrar en NP_062042.1.
 La secuencia de ácido nucleico de un transcrito de ARNm de
 SNCA de mono se puede encontrar en XM_005555422.2; y la
 secuencia de aminoácidos de una proteína SNCA de mono se
 puede encontrar en XP_005555479.1.

25 Como se usa en la presente descripción, “MAPT”
 se refiere a un transcrito de ARNm de MAPT humano, que
 codifica una proteína Tau asociada a microtúbulos. Las

secuencias de nucleótidos de variantes del transcrito de MAPT humano y las secuencias de aminoácidos de isoformas de la proteína tau humana pueden encontrarse en:

- i. Variante 1 del transcrito de MAPT →
5 isoforma 1 de la proteína tau: NM_016835.5
 (secuencia de nucleótidos) → NP_058519.3
 (secuencia de aminoácidos);
- ii. Variante 2 del transcrito de MAPT →
 Isoforma 2 de la proteína Tau: NM_005910.6
10 (secuencia de nucleótidos) → NP_005901.2
 (secuencia de aminoácidos);
- iii. Variante 3 del transcrito de MAPT →
 Isoforma 3 de la proteína Tau: NM_016834.5
 (secuencia de nucleótidos) → NP_058518.1
15 (secuencia de aminoácidos);
- iv. Variante 4 del transcrito de MAPT →
 Isoforma 4 de la proteína Tau: NM_016841.5
 (secuencia de nucleótidos) → NP_058525.1
 (secuencia de aminoácidos);
- 20 v. Variante 5 del transcrito de MAPT → isoforma
 5 de la proteína tau: NM_001123067.4
 (secuencia de nucleótidos) → NP_001116539.1
 (secuencia de aminoácidos);
- vi. Variante 6 del transcrito de MAPT → Isoforma
25 6 de la proteína Tau: NM_001123066.4

(secuencia de nucleótidos) → NP_001116538.2
(secuencia de aminoácidos);

vii. Variante 7 del transcrito de MAPT → Isoforma
7 de la proteína Tau: NM_001203251.2
5 (secuencia de nucleótidos) → NP_001190180.1
(secuencia de aminoácidos);

viii. Variante 8 del transcrito de MAPT → Isoforma
8 de la proteína Tau: NM_001203252.2
(secuencia de nucleótidos) → NP_001190181.1
10 (secuencia de aminoácidos);

ix. Variante 9 del transcrito de MAPT → Isoforma
9 de la proteína Tau: NM_001377265.1
(secuencia de nucleótidos) → NP_001364194.1
(secuencia de aminoácidos);

15 x. Variante 10 del transcrito de MAPT →
Isoforma 10 de la proteína Tau:
NM_001377266.1 (secuencia de nucleótidos) →
NP_001364195.1 (secuencia de aminoácidos);

xi. Variante 11 del transcrito de MAPT →
20 Isoforma 11 de la proteína Tau:
NM_001377267.1 (secuencia de nucleótidos) →
NP_001364196.1 (secuencia de aminoácidos);

xii. Variante 12 del transcrito de MAPT →
Isoforma 4 de la proteína Tau:
25 NM_001377268.1 (secuencia de nucleótidos) →
NP_001364197.1 (secuencia de aminoácidos).

La secuencia de nucleótidos de la variante 6 del transcrito de MAPT humano (que codifica tau 2N4R) puede encontrarse en NM_001123066.4:

```

1 GCAGTCACCG CCACCCACCA GCTCCGGCAC CAACAGCAGC GCCGCTGCCA CCGCCCACCT
5 61 TCTGCCGCCG CCACCACAGC CACCTTCTCC TCCTCCGCTG TCCTCTCCCG TCCTCGCCTC
121 TGTCGACTAT CAGGTGAACT TTGAACCAGG ATGGCTGAGC CCCGCCAGGA GTTCGAAGTG
181 ATGGAAGATC ACGCTGGGAC GTACGGGTTG GGGGACAGGA AAGATCAGGG GGGCTACACC
241 ATGCACCAAG ACCAAGAGGG TGACACGGAC GCTGGCCTGA AAGAATCTCC CCTGCAGACC
301 CCCACTGAGG ACGGATCTGA GGAACCGGGC TCTGAAACCT CTGATGCTAA GAGCACTCCA
10 361 ACAGCGGAAG ATGTGACAGC ACCCTTAGTG GATGAGGGAG CTCCCGGCAA GCAGGCTGCC
421 GCGCAGCCCC ACACGGAGAT CCCAGAAGGA ACCACAGCTG AAGAAGCAGG CATTGGAGAC
481 ACCCCCAGCC TGAAGACGA AGCTGCTGGT CACGTGACCC AAGAGCCTGA AAGTGGTAAG
541 GTGGTCCAGG AAGGCTTCCT CCGAGAGCCA GGCCCCCAG GTCTGAGCCA CCAGCTCATG
601 TCCGGCATGC CTGGGGCTCC CCTCCTGCCT GAGGGCCCCA GAGAGGCCAC ACGCCAACCT
15 661 TCGGGGACAG GACCTGAGGA CACAGAGGGC GGCCGCCACG CCCCTGAGCT GCTCAAGCAC
721 CAGCTTCTAG GAGACCTGCA CCAGGAGGGG CCGCCGCTGA AGGGGGCAGG GGGCAAAGAG
781 AGGCCGGGGA GCAAGGAGGA GGTGGATGAA GACCGCGACG TCGATGAGTC CTCCCCCAA
841 GACTCCCCTC CCTCCAAGGC CTCCCCAGCC CAAGATGGGC GCCTCCCCA GACAGCCGCC
901 AGAGAAGCCA CCAGCATCCC AGGCTTCCCA GCGGAGGGTG CCATCCCCCT CCCTGTGGAT
20 961 TTCCTCTCCA AAGTTTCCAC AGAGATCCCA GCCTCAGAGC CCGACGGGCC CAGTGTAGGG
1021 CGGGCCAAAG GGCAGGATGC CCCCTGGAG TTCACGTTTC ACGTGAAAT CACACCCAAC
1081 GTGCAGAAGG AGCAGGCGCA CTCGAGGAG CATTTGGGAA GGGCTGCATT TCCAGGGGCC
1141 CCTGGAGAGG GGCCAGAGGC CCGGGGCCCC TCTTTGGGAG AGGACACAAA AGAGGCTGAC
1201 CTTCCAGAGC CCTCTGAAAA GCAGCCTGCT GCTGCTCCGC GGGGAAGCC CGTCAGCCGG
25 1261 GTCCCTCAAC TCAAAGCTCG CATGGTCAGT AAAAGCAAAG ACGGGACTGG AAGCGATGAC
1321 AAAAAAGCCA AGACATCCAC ACGTTCCTCT GCTAAACCT TGAATAATAG GCCTTGCCTT
1381 AGCCCCAAAC ACCCACTCC TGGTAGCTCA GACCCTCTGA TCCAACCCTC CAGCCCTGCT
1441 GTGTGCCAG AGCCACCTTC CTCTCCTAAA TACGTCTCTT CTGTCACTTC CCGAACTGGC
1501 AGTTCTGGAG CAAAGGAGAT GAAACTCAAG GGGGCTGATG GTAAAACGAA GATCGCCACA
30 1561 CCGCGGGGAG CAGCCCCTCC AGGCCAGAAG GGCCAGGCCA ACGCCACCAG GATTCCAGCA

```

1621 AAAACCCCGC CCGCTCCAAA GACACCACCC AGCTCTGCGA CTAAGCAAGT CCAGAGAAGA
1681 CCACCCCCTG CAGGGCCCAG ATCTGAGAGA GGTGAACCTC CAAAATCAGG GGATCGCAGC
1741 GGCTACAGCA GCCCCGGCTC CCCAGGCACT CCCGGCAGCC GCTCCCGCAC CCCGTCCCTT
1801 CCAACCCAC CCACCCGGGA GCCCAAGAAG GTGGCAGTGG TCCGTACTCC ACCCAAGTCG
5 1861 CCGTCTTCCG CCAAGAGCCG CCTGCAGACA GCCCCGTGC CCATGCCAGA CCTGAAGAAT
1921 GTCAAGTCCA AGATCGGCTC CACTGAGAAC CTGAAGCACC AGCCGGGAGG CGGGAAGGTG
1981 CAGATAATTA ATAAGAAGCT GGATCTTAGC AACGTCCAGT CCAAGTGTGG CTCAAAGGAT
2041 AATATCAAAC ACGTCCCGGG AGGCGGCAGT GTGCAAATAG TCTACAAACC AGTTGACCTG
2101 AGCAAGGTGA CCTCCAAGTG TGGCTCATTA GGCAACATCC ATCATAAACC AGGAGGTGGC
10 2161 CAGGTGGAAG TAAAATCTGA GAAGCTTGAC TTCAAGGACA GAGTCCAGTC GAAGATTGGG
2221 TCCCTGGACA ATATCACCCA CGTCCCTGGC GGAGGAAATA AAAAGATTGA AACCCACAAG
2281 CTGACCTTCC GCGAGAACGC CAAAGCCAAG ACAGACCACG GGGCGGAGAT CGTGTACAAG
2341 TCGCCAGTGG TGTCTGGGGA CACGTCTCCA CGGCATCTCA GCAATGTCTC CTCCACCGGC
2401 AGCATCGACA TGGTAGACTC GCCCCAGCTC GCCACGCTAG CTGACGAGGT GTCTGCCTCC
15 2461 CTGGCCAAGC AGGGTTTGTG ATCAGGCCCC TGGGGCGGTC AATAATTGTG GAGAGGAGAG
2521 AATGAGAGAG TGTGGAAAAA AAAAGAATAA TGACCCGGCC CCCGCCCTCT GCCCCAGCT
2581 GCTCCTCGCA GTTCGGTTAA TTGGTTAATC ACTTAACCTG CTTTTGTCAC TCGGCTTTGG
2641 CTCGGGACTT CAAAATCAGT GATGGGAGTA AGAGCAAATT TCATCTTTCC AAATTGATGG
2701 GTGGGCTAGT AATAAAATAT TTAATAAAAA ACATTCAAAA ACATGGCCAC ATCCAACATT
20 2761 TCCTCAGGCA ATTCCTTTTG ATTCTTTTTT CTTCCCCCTC CATGTAGAAG AGGGAGAAGG
2821 AGAGGCTCTG AAAGCTGCTT CTGGGGGATT TCAAGGGACT GGGGGTGCCA ACCACCTCTG
2881 GCCCTGTTGT GGGGGTGTCA CAGAGGCAGT GGCAGCAACA AAGGATTGA AACTTGGTGT
2941 GTTCGTGGAG CCACAGGCAG ACGATGTCAA CCTTGTGTGA GTGTGACGGG GGTGGGGTG
3001 GGGCGGGAGG CCACGGGGGA GGCCGAGGCA GGGGCTGGGC AGAGGGGAGA GGAAGCACAA
25 3061 GAAGTGGGAG TGGGAGAGGA AGCCACGTGC TGGAGAGTAG ACATCCCCCT CCTTGCCGCT
3121 GGGAGAGCCA AGGCCTATGC CACCTGCAGC GTCTGAGCGG CCGCCTGTCC TTGGTGGCCG
3181 GGGGTGGGGG CCTGCTGTGG GTCAGTGTGC CACCCTCTGC AGGGCAGCCT GTGGGAGAAG
3241 GGACAGCGGG TAAAAAGAGA AGGCAAGCTG GCAGGAGGGT GGCATTTCGT GGATGACCTC
3301 CTTAGAAAAG ACTGACCTTG ATGTCTTGAG AGCGCTGGCC TCTTCCTCCC TCCCTGCAGG
30 3361 GTAGGGGGCC TGAGTTGAGG GGCTTCCCTC TGCTCCACAG AAACCCTGTT TTATTGAGTT
3421 CTGAAGGTTG GAACTGCTGC CATGATTTTG GCCACTTTGC AGACCTGGGA CTTTAGGGCT

3481 AACCAGTTCT CTTTGTAAGG ACTTGTGCCT CTTGGGAGAC GTCCACCCGT TTCCAAGCCT
3541 GGGCCACTGG CATCTCTGGA GTGTGTGGGG GTCTGGGAGG CAGGTCCCGA GCCCCCTGTC
3601 CTTCCCACGG CCACTGCAGT CACCCCGTCT GCGCCGCTGT GCTGTTGTCT GCCGTGAGAG
3661 CCCAATCACT GCCTATACCC CTCATCACAC GTCACAATGT CCCGAATTCC CAGCCTCACC
5 3721 ACCCCTTCTC AGTAATGACC CTGGTTGGTT GCAGGAGGTA CCTACTCCAT ACTGAGGGTG
3781 AAATTAAGGG AAGGCAAAGT CCAGGCACAA GAGTGGGACC CCAGCCTCTC ACTCTCAGTT
3841 CCACTCATCC AACTGGGACC CTCACCACGA ATCTCATGAT CTGATTCCGGT TCCCTGTCTC
3901 CTCCTCCCGT CACAGATGTG AGCCAGGGCA CTGCTCAGCT GTGACCCTAG GTGTTTCTGC
3961 CTTGTTGACA TGGAGAGAGC CCTTTCCCCT GAGAAGGCCT GGGCCCTTCC TGTGCTGAGC
10 4021 CCACAGCAGC AGGCTGGGTG TCTTGGTTGT CAGTGGTGGC ACCAGGATGG AAGGGCAAGG
4081 CACCCAGGGC AGGCCACAG TCCCGCTGTC CCCCCTTGC ACCCTAGCTT GTAGCTGCCA
4141 ACCTCCCAGA CAGCCCAGCC CGCTGCTCAG CTCCACATGC ATAGTATCAG CCCTCCACAC
4201 CCGACAAAGG GGAACACACC CCCTTGAAA TGGTTCTTTT CCCCAGTCC CAGCTGGAAG
4261 CCATGCTGTC TGTTCCTGCTG GAGCAGCTGA ACATATACAT AGATGTTGCC CTGCCCTCCC
15 4321 CATCTGCACC CTGTTGAGTT GTAGTTGGAT TTGTCTGTTT ATGCTTGGAT TCACCAGAGT
4381 GACTATGATA GTGAAAAGAA AAAAAAAAAA AAAAAAGGAC GCATGTATCT TGAAATGCTT
4441 GTAAAGAGGT TTCTAACCCA CCCTCACGAG GTGTCTCTCA CCCCACACT GGGACTCGTG
4501 TGGCCTGTGT GGTGCCACCC TGCTGGGGCC TCCAAGTTT TGAAAGGCTT TCCTCAGCAC
4561 CTGGGACCCA ACAGAGACCA GCTTCTAGCA GCTAAGGAGG CCGTTCAGCT GTGACGAAGG
20 4621 CCTGAAGCAC AGGATTAGGA CTGAAGCGAT GATGTCCCCT TCCCTACTTC CCCTTGGGGC
4681 TCCCTGTGTC AGGGCACAGA CTAGGTCTTG TGGCTGGTCT GGCTTGC GCGAGGATGG
4741 TTCTCTCTGG TCATAGCCCG AAGTCTCATG GCAGTCCCAA AGGAGGCTTA CAACTCCTGC
4801 ATCACAAGAA AAAGGAAGCC ACTGCCAGCT GGGGGGATCT GCAGCTCCCA GAAGCTCCGT
4861 GAGCCTCAGC CACCCCTCAG ACTGGGTTCC TCTCCAAGCT CGCCCTCTGG AGGGGCAGCG
25 4921 CAGCCTCCCA CCAAGGGCCC TGCGACCACA GCAGGGATTG GGATGAATTG CCTGTCCTGG
4981 ATCTGCTCTA GAGGCCCAAG CTGCCTGCCT GAGGAAGGAT GACTTGACAA GTCAGGAGAC
5041 ACTGTTCCCA AAGCCTTGAC CAGAGCACCT CAGCCCGCTG ACCTTGACAA AACTCCATCT
5101 GCTGCCATGA GAAAAGGGAA GCCGCCTTTG CAAAACATTG CTGCCTAAAG AAACCTCAGCA
5161 GCCTCAGGCC CAATTCTGCC ACTTCTGGTT TGGGTACAGT TAAAGGCAAC CCTGAGGGAC
30 5221 TTGGCAGTAG AAATCCAGGG CCTCCCCTGG GGCTGGCAGC TTCGTGTGCA GCTAGAGCTT
5281 TACCTGAAAG GAAGTCTCTG GGCCAGAAC TCTCCACCAA GAGCCTCCCT GCCGTTCGCT

5341 GAGTCCCAGC AATTCTCCTA AGTTGAAGGG ATCTGAGAAG GAGAAGGAAA TGTGGGGTAG
 5401 ATTTGGTGGT GGTTAGAGAT ATGCCCCCCT CATTACTGCC AACAGTTTCG GCTGCATTTTC
 5461 TTCACGCACC TCGGTTCCCTC TTCCTGAAGT TCTTGTGCCC TGCTCTTCAG CACCATGGGC
 5521 CTTCTTATAC GGAAGGCTCT GGGATCTCCC CCTTGTGGGG CAGGCTCTTG GGGCCAGCCT
 5 5581 AAGATCATGG TTTAGGGTGA TCAGTGCTGG CAGATAAATT GAAAAGGCAC GCTGGCTTGT
 5641 GATCTTAAAT GAGGACAATC CCCCCAGGGC TGGGCACTCC TCCCCTCCCC TCACTTCTCC
 5701 CACCTGCAGA GCCAGTGTCC TTGGGTGGGC TAGATAGGAT ATACTGTATG CCGGCTCCTT
 5761 CAAGCTGCTG ACTCACTTTA TCAATAGTTC CATTTAAATT GACTTCAGTG GTGAGACTGT
 5821 ATCCTGTTTG CTATTGCTTG TTGTGCTATG GGGGGAGGGG GGAGGAATGT GTAAGATAGT
 10 5881 TAACATGGGC AAAGGGAGAT CTTGGGGTGC AGCACTTAAA CTGCCTCGTA ACCCTTTTCA
 5941 TGATTTCAAC CACATTTGCT AGAGGGAGGG AGCAGCCACG GAGTTAGAGG CCCTTGGGGT
 6001 TTCTCTTTTC CACTGACAGG CTTTCCCAGG CAGCTGGCTA GTTCATTCCC TCCCCAGCCA
 6061 GGTGCAGGCG TAGGAATATG GACATCTGGT TGCTTTGGCC TGCTGCCCTC TTTCAGGGGT
 6121 CCTAAGCCCA CAATCATGCC TCCCTAAGAC CTTGGCATCC TTCCCTCTAA GCCGTTGGCA
 15 6181 CCTCTGTGCC ACCTCTCACA CTGGCTCCAG ACACACAGCC TGTGCTTTTG GAGCTGAGAT
 6241 CACTCGCTTC ACCCTCCTCA TCTTTGTTCT CCAAGTAAAG CCACGAGGTC GGGGCGAGGG
 6301 CAGAGGTGAT CACCTGCGTG TCCCATCTAC AGACCTGCAG CTTCATAAAA CTTCTGATTT
 6361 CTCTTCAGCT TTGAAAAGGG TTACCCTGGG CACTGGCCTA GAGCCTCACC TCCTAATAGA
 6421 CTTAGCCCCA TGAGTTTGCC ATGTTGAGCA GGACTATTTT TGGCACTTGC AAGTCCCATG
 20 6481 ATTTCTTCGG TAATTCTGAG GGTGGGGGGA GGGACATGAA ATCATCTTAG CTTAGCTTTC
 6541 TGTCTGTGAA TGTCTATATA GTGTATTGTG TGTTTTAACA AATGATTAC ACTGACTGTT
 6601 GCTGTAAAAG TGAATTTGGA AATAAAGTTA TTA CTCTGAT TAAA

(sec. con núm. de ident.: 156).

La secuencia de aminoácidos correspondiente de la
 25 isoforma 6 de la proteína Tau humana se puede encontrar en
 NP_001116538.2:

1 MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT PTEDGSEEPG
 61 SETSDAKSTP TAEDVTAPLV DEGAPGKQAA AQPHTEIPEG TTAE EAGIGD TPSLEDEAAG
 121 HVTQEPESGK VVQEGFLREP GPPGLSHQLM SGMPGAPLLP EGPREATRQP SGTGPEDTEG
 30 181 GRHAPELLKH QLLGDLHQEG PPLKGAGGKE RPGSKEEVDE DRDVEDESSPQ DSPPSKASPA

241 QDGRPPQTAA REATSIPGFP AEGAIPLPVD FLSKVSTEIP ASEPDGPSVG RAKGQDAPLE
 301 FTFHVEITPN VQKEQAHSEE HLGRAAFPGA PEGEPEARGP SLGEDTKEAD LPEPSEKQPA
 361 AAPRGKPVSR VPQLKARMVS KSKDGTGSDD KKAKTSTRSS AKTLKNRPCL SPKHPTPGSS
 421 DPLIQPSSPA VCEPFPSSPK YVSSVTSRTG SSGAKEMKLK GADGKTKIAT PRGAAPPQK
 5 481 GQANATRIPA KTPPAPKTPP SSATKQVQRR PPPAGPRSER GEPPKSGDRS GYSSPGSPGT
 541 PGSRSRTPSL PTPPTREPKK VAVVRTPPKS PSSAKSRLQT APVPMPLKN VKSKIGSTEN
 601 LKHQPGGGKV QIINKKLDLS NVQSKCGSKD NIKHVPGGGS VQIVYKPVDL SKVTSKCGSL
 661 GNIHHKPGGG QVEVKSEKLD FKDRVQSKIG SLDNITHVPG GGNKKIETHK LTFRENAKAK
 721 TDHGAIEIVYK SPVVSGDTSP RHLSNVSTG SIDMVDSPQL ATLADEV SAS LAKQGL
 10 (sec. con núm. de ident.: 157).

La secuencia de nucleótidos de una variante 5 del
 transcrito de MAPT humano (que codifica tau 1N4R) puede
 encontrarse en NM_001123067.4:

1 GCAGTCACCG CCACCCACCA GCTCCGGCAC CAACAGCAGC GCCGCTGCCA CCGCCACCT
 15 61 TCTGCCGCCG CCACCACAGC CACCTTCTCC TCCTCCGCTG TCCTCTCCCG TCCTCGCCTC
 121 TGTCGACTAT CAGGTGAACT TTGAACCAGG ATGGCTGAGC CCCGCCAGGA GTTCGAAGTG
 181 ATGGAAGATC ACGCTGGGAC GTACGGGTTG GGGGACAGGA AAGATCAGGG GGGCTACACC
 241 ATGCACCAAG ACCAAGAGGG TGACACGGAC GCTGGCCTGA AAGAATCTCC CCTGCAGACC
 301 CCCACTGAGG ACGGATCTGA GGAACCGGGC TCTGAAACCT CTGATGCTAA GAGCACTCCA
 20 361 ACAGCGGAAG CTGAAGAAGC AGGCATTGGA GACACCCCA GCCTGGAAGA CGAAGCTGCT
 421 GGTCACGTGA CCCAAGCTCG CATGGTCAGT AAAAGCAAAG ACGGGACTGG AAGCGATGAC
 481 AAAAAAGCCA AGGGGGCTGA TGGTAAACG AAGATCGCCA CACCGCGGGG AGCAGCCCCT
 541 CCAGGCCAGA AGGGCCAGGC CAACGCCACC AGGATTCCAG CAAAAACCCG GCCCGCTCCA
 601 AAGACACCAC CCAGCTCTGG TGAACCTCCA AAATCAGGGG ATCGCAGCGG CTACAGCAGC
 25 661 CCCGGCTCCC CAGGCACTCC CGGCAGCCGC TCCCGCACCC CGTCCCTTCC AACCCACCC
 721 ACCCGGGAGC CCAAGAAGGT GGCAGTGGTC CGTACTCCAC CCAAGTCGCC GTCTTCCGCC
 781 AAGAGCCGCC TGCAGACAGC CCCCGTGCCC ATGCCAGACC TGAAGAATGT CAAGTCCAAG
 841 ATCGGCTCCA CTGAGAACCT GAAGCACCAG CCGGGAGGCG GGAAGGTGCA GATAATTAAT
 901 AAGAAGCTGG ATCTTAGCAA CGTCCAGTCC AAGTGTGGCT CAAAGGATAA TATCAAACAC
 30 961 GTCCCGGGAG GCGGCAGTGT GCAAATAGTC TACAAACCAG TTGACCTGAG CAAGGTGACC

1021 TCCAAGTGTG GCTCATTAGG CAACATCCAT CATAAACCAG GAGGTGGCCA GGTGGAAGTA
1081 AAATCTGAGA AGCTTGACTT CAAGGACAGA GTCCAGTCGA AGATTGGGTC CCTGGACAAT
1141 ATCACCCACG TCCCTGGCGG AGGAAATAAA AAGATTGAAA CCCACAAGCT GACCTTCCGC
1201 GAGAACGCCA AAGCCAAGAC AGACCACGGG GCGGAGATCG TGTACAAGTC GCCAGTGGTG
5 1261 TCTGGGGACA CGTCTCCACG GCATCTCAGC AATGTCTCCT CCACCGGCAG CATCGACATG
1321 GTAGACTCGC CCCAGCTCGC CACGCTAGCT GACGAGGTGT CTGCCTCCCT GGCCAAGCAG
1381 GGT TTGTGAT CAGGCCCTG GGGCGGTCAA TAATTGTGGA GAGGAGAGAA TGAGAGAGTG
1441 TGGAAAAAAA AAGAATAATG ACCCGGCCCC CGCCCTCTGC CCCAGCTGC TCCTCGCAGT
1501 TCGGTTAATT GGTTAATCAC TTAACCTGCT TTTGTCACTC GGCTTTGGCT CGGGACTTCA
10 1561 AAATCAGTGA TGGGAGTAAG AGCAAATTTT ATCTTTCCAA ATTGATGGGT GGGCTAGTAA
1621 TAAATATTTT AAAAAAAAC ATTCAAAAAC ATGGCCACAT CCAACATTTT CTCAGGCAAT
1681 TCCTTTTGAT TCTTTTTTCT TCCCCCTCCA TGTAGAAGAG GGAGAAGGAG AGGCTCTGAA
1741 AGCTGCTTCT GGGGGATTTC AAGGGACTGG GGGTGCCAAC CACCTCTGGC CCTGTTGTGG
1801 GGGTGT CACA GAGGCAGTGG CAGCAACAAA GGATTTGAAA CTTGGTGTGT TCGTGGAGCC
15 1861 ACAGGCAGAC GATGTCAACC TTGTGTGAGT GTGACGGGGG TTGGGGTGGG GCGGGAGGCC
1921 ACGGGGAGG CCGAGGCAGG GGCTGGGCAG AGGGGAGAGG AAGCACAAGA AGTGGGAGTG
1981 GGAGAGGAAG CCACGTGCTG GAGAGTAGAC ATCCCCCTCC TTGCCGCTGG GAGAGCCAAG
2041 GCCTATGCCA CCTGCAGCGT CTGAGCGGCC GCCTGTCCTT GGTGGCCGGG GGTGGGGGCC
2101 TGCTGTGGGT CAGTGTGCCA CCCTCTGCAG GGCAGCCTGT GGGAGAAGGG ACAGCGGGTA
20 2161 AAAAGAGAAG GCAAGCTGGC AGGAGGGTGG CACTTCGTGG ATGACCTCCT TAGAAAAGAC
2221 TGACCTTGAT GTCTTGAGAG CGCTGGCCTC TTCCTCCCTC CCTGCAGGGT AGGGGGCCTG
2281 AGTTGAGGGG CTTCCCTCTG CTCCACAGAA ACCCTGTTTT ATTGAGTTCT GAAGGTTGGA
2341 ACTGCTGCCA TGATTTTGGC CACTTTGCAG ACCTGGGACT TTAGGGCTAA CCAGTTCTCT
2401 TTGTAAGGAC TTGTGCCTCT TGGGAGACGT CCACCCGTTT CCAAGCCTGG GCCACTGGCA
25 2461 TCTCTGGAGT GTGTGGGGGT CTGGGAGGCA GGTCCCGAGC CCCCTGTCCT TCCCACGGCC
2521 ACTGCAGTCA CCCCGTCTGC GCCGCTGTGC TGTTGTCTGC CGTGAGAGCC CAATCACTGC
2581 CTATACCCCT CATCACACGT CACAATGTCC CGAATTCCCA GCCTCACCAC CCCTTCTCAG
2641 TAATGACCCT GGT TGGTTGC AGGAGGTACC TACTCCATAC TGAGGGTGAA ATTAAGGGAA
2701 GGCAAAGTCC AGGCACAAGA GTGGGACCCC AGCCTCTCAC TCTCAGTTCC ACTCATCCAA
30 2761 CTGGGACCCT CACCACGAAT CTCATGATCT GATTTCGGTT CCTGTCTCCT CCTCCCGTCA
2821 CAGATGTGAG CCAGGGCACT GCTCAGCTGT GACCCTAGGT GTTCTGCCT TGT TGACATG

2881 GAGAGAGCCC TTTCCTCTGA GAAGGCCTGG CCCCTTCCTG TGCTGAGCCC ACAGCAGCAG
2941 GCTGGGTGTC TTGGTTGTCA GTGGTGGCAC CAGGATGGAA GGGCAAGGCA CCCAGGGCAG
3001 GCCCACAGTC CCGCTGTCCC CCACTTGAC CCTAGCTTGT AGCTGCCAAC CTCCCAGACA
3061 GCCCAGCCCG CTGCTCAGCT CCACATGCAT AGTATCAGCC CTCCACACCC GACAAAGGGG
5 3121 AACACACCCC CTTGGAAATG GTTCTTTTCC CCCAGTCCCA GCTGGAAGCC ATGCTGTCTG
3181 TTCTGCTGGA GCAGCTGAAC ATATACATAG ATGTTGCCCT GCCCTCCCCA TCTGCACCCT
3241 GTTGAGTTGT AGTTGGATTT GTCTGTTTAT GCTTGGATTC ACCAGAGTGA CTATGATAGT
3301 GAAAAGAAAA AAAAAAAAAA AAAAGGACGC ATGTATCTTG AAATGCTTGT AAAGAGGTTT
3361 CTAACCCACC CTCACGAGGT GTCTCTCACC CCCACACTGG GACTCGTGTG GCCTGTGTGG
10 3421 TGCCACCCTG CTGGGGCCTC CCAAGTTTTG AAAGGCTTTC CTCAGCACCT GGGACCCAAC
3481 AGAGACCAGC TTCTAGCAGC TAAGGAGGCC GTTCAGCTGT GACGAAGGCC TGAAGCACAG
3541 GATTAGGACT GAAGCGATGA TGTCCCCTTC CCTACTTCCC CTTGGGGCTC CCTGTGTCAG
3601 GGCACAGACT AGGTCTTGTG GCTGGTCTGG CTTGCGGCGC GAGGATGGTT CTCTCTGGTC
3661 ATAGCCCGAA GTCTCATGGC AGTCCCAAAG GAGGCTTACA ACTCCTGCAT CACAAGAAAA
15 3721 AGGAAGCCAC TGCCAGCTGG GGGGATCTGC AGCTCCCAGA AGCTCCGTGA GCCTCAGCCA
3781 CCCCTCAGAC TGGGTTCCCTC TCCAAGCTCG CCCTCTGGAG GGGCAGCGCA GCCTCCACC
3841 AAGGGCCCTG CGACCACAGC AGGGATTGGG ATGAATTGCC TGTCTGGAT CTGCTCTAGA
3901 GGCCCAAGCT GCCTGCCTGA GGAAGGATGA CTTGACAAGT CAGGAGACAC TGTTCCCAAA
3961 GCCTTGACCA GAGCACCTCA GCCCCTGAC CTTGCACAAA CTCCATCTGC TGCCATGAGA
20 4021 AAAGGGAAGC CGCCTTTGCA AAACATTGCT GCCTAAAGAA ACTCAGCAGC CTCAGGCCCA
4081 ATTCTGCCAC TTCTGGTTTG GGTACAGTTA AAGGCAACCC TGAGGGACTT GGCAGTAGAA
4141 ATCCAGGGCC TCCCCTGGGG CTGGCAGCTT CGTGTGCAGC TAGAGCTTTA CCTGAAAGGA
4201 AGTCTCTGGG CCCAGAACTC TCCACCAAGA GCCTCCCTGC CGTTCGCTGA GTCCCAGCAA
4261 TTCTCCTAAG TTGAAGGGAT CTGAGAAGGA GAAGGAAATG TGGGGTAGAT TTGGTGGTGG
25 4321 TTAGAGATAT GCCCCCTCA TTAAGTCCAA CAGTTTCGGC TGCATTTCTT CACGCACCTC
4381 GGTTCCTCTT CCTGAAGTTC TTGTGCCCTG CTCTTCAGCA CCATGGGCCT TCTTATACGG
4441 AAGGCTCTGG GATCTCCCCC TTGTGGGGCA GGCTCTTGGG GCCAGCCTAA GATCATGGTT
4501 TAGGGTGATC AGTGCTGGCA GATAAATTGA AAAGGCACGC TGGCTTGTGA TCTTAAATGA
4561 GGACAATCCC CCCAGGGCTG GGCACCTCTC CCCTCCCCTC ACTTCTCCCA CCTGCAGAGC
30 4621 CAGTGTCTTT GGGTGGGCTA GATAGGATAT ACTGTATGCC GGCTCCTTCA AGCTGCTGAC
4681 TCACTTTATC AATAGTTCCA TTAAATTGA CTTAGTGGT GAGACTGTAT CCTGTTTGCT

4741 ATTGCTTGTT GTGCTATGGG GGGAGGGGGG AGGAATGTGT AAGATAGTTA ACATGGGCAA
 4801 AGGGAGATCT TGGGGTGCAG CACTTAAACT GCCTCGTAAC CCTTTTCATG ATTTCAACCA
 4861 CATTGTCTAG AGGGAGGGAG CAGCCACGGA GTTAGAGGCC CTTGGGGTTT CTCTTTTCCA
 4921 CTGACAGGCT TTCCCAGGCA GCTGGCTAGT TCATTCCCTC CCCAGCCAGG TGCAGGCGTA
 5 4981 GGAATATGGA CATCTGGTTG CTTTGGCCTG CTGCCCTCTT TCAGGGGTCC TAAGCCCACA
 5041 ATCATGCCTC CCTAAGACCT TGGCATCCTT CCCTCTAAGC CGTTGGCACC TCTGTGCCAC
 5101 CTCTCACACT GGCTCCAGAC ACACAGCCTG TGCTTTTGA GCTGAGATCA CTCGCTTCAC
 5161 CCTCCTCATC TTTGTTCTCC AAGTAAAGCC ACGAGGTCGG GGCAGGGGCA GAGGTGATCA
 5221 CCTGCGTGTC CCATCTACAG ACCTGCAGCT TCATAAACT TCTGATTCT CTTCAGCTTT
 10 5281 GAAAAGGGTT ACCCTGGGCA CTGGCCTAGA GCCTCACCTC CTAATAGACT TAGCCCCATG
 5341 AGTTTGCCAT GTTGAGCAGG ACTATTTCTG GCACTTGCAA GTCCCATGAT TTCTTCGGTA
 5401 ATTCTGAGGG TGGGGGGAGG GACATGAAAT CATCTTAGCT TAGCTTTCTG TCTGTGAATG
 5461 TCTATATAGT GTATTGTGTG TTTAACAAA TGATTACAC TGAAGTTGC TGTAAGAGTG
 5521 AATTTGAAA TAAAGTTATT ACTCTGATTA AA
 15 (sec. con núm. de ident.: 158).

La secuencia de aminoácidos correspondiente de la isoforma 5 de la proteína Tau humana se puede encontrar en NP_001116539.1:

1 MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKESPLQT PTEDGSEEPG
 20 61 SETSDAKSTP TAEAEAGIG DTPSLEDEAA GHVTQARMVS KSKDGTGSDD KKAKGADGKT
 121 KIATPRGAAP PGQKGQANAT RIPAKTPPAP KTPPSSGEPP KSGDRSGYSS PGSPGTPGSR
 181 SRTPSLPTPP TREPKKVAVV RTPPKSPSSA KSRLQTAPVP MPDLKNVSK IGSTENLKHQ
 241 PGGGKVQIIN KKLDSLNVQS KCGSKDNIKH VPGGGSVQIV YKPVDLSKVT SKCGSLGNIH
 301 HKPGGGQVEV KSEKLDFKDR VQSKIGSLDN ITHVPGGGNK KIETHKLTFR ENAKAKTDHG
 25 361 AEIVYKSPVV SGTSPRHLS NVSSTGSIDM VDSPQLATLA DEVSASLAKQ GL
 (sec. con núm. de ident.: 159).

La secuencia de nucleótidos de la variante 4 del transcrito de MAPT humano (que codifica tau 0N3R) puede encontrarse en NM_016841.5:

1 GCAGTCACCG CCACCCACCA GCTCCGGCAC CAACAGCAGC GCCGCTGCCA CCGCCCACCT
61 TCTGCCGCCG CCACCACAGC CACCTTCTCC TCCTCCGCTG TCCTCTCCCG TCCTCGCCTC
121 TGTCGACTAT CAGGTGAACT TTGAACCAGG ATGGCTGAGC CCCGCCAGGA GTTCGAAGTG
181 ATGGAAGATC ACGCTGGGAC GTACGGGTTG GGGGACAGGA AAGATCAGGG GGGCTACACC
5 241 ATGCACCAAG ACCAAGAGGG TGACACGGAC GCTGGCCTGA AAGCTGAAGA AGCAGGCATT
301 GGAGACACCC CCAGCCTGGA AGACGAAGCT GCTGGTCACG TGACCCAAGC TCGCATGGTC
361 AGTAAAAGCA AAGACGGGAC TGAAGCGAT GACAAAAAAG CCAAGGGGGC TGATGGTAAA
421 ACGAAGATCG CCACACCGCG GGGAGCAGCC CCTCCAGGCC AGAAGGGCCA GGCCAACGCC
481 ACCAGGATTC CAGCAAAAAC CCCGCCGCT CCAAAGACAC CACCCAGCTC TGGTGAACCT
10 541 CAAAATCAG GGGATCGCAG CGGCTACAGC AGCCCCGGCT CCCAGGCAC TCCCGGCAGC
601 CGCTCCCGCA CCCCGTCCCT TCCAACCCA CCCACCCGGG AGCCCAAGAA GGTGGCAGTG
661 GTCCGTACTC CACCCAAGTC GCCGTCTTCC GCCAAGAGCC GCCTGCAGAC AGCCCCCGTG
721 CCCATGCCAG ACCTGAAGAA TGTCAAGTCC AAGATCGGCT CCACTGAGAA CCTGAAGCAC
781 CAGCCGGGAG GCGGGAAGGT GCAAATAGTC TACAAACCAG TTGACCTGAG CAAGGTGACC
15 841 TCCAAGTGTG GCTCATTAGG CAACATCCAT CATAAACCAG GAGGTGGCCA GGTGGAAGTA
901 AAATCTGAGA AGCTTGACTT CAAGGACAGA GTCCAGTCGA AGATTGGGTC CCTGGACAAT
961 ATCACCACG TCCCTGGCGG AGGAAATAAA AAGATTGAAA CCCACAAGCT GACCTTCCGC
1021 GAGAACGCCA AAGCCAAGAC AGACCACGGG GCGGAGATCG TGTACAAGTC GCCAGTGGTG
1081 TCTGGGGACA CGTCTCCACG GCATCTCAGC AATGTCTCCT CCACCGGCAG CATCGACATG
20 1141 GTAGACTCGC CCCAGCTCGC CACGCTAGCT GACGAGGTGT CTGCCTCCCT GGCCAAGCAG
1201 GGTTTGTGAT CAGGCCCCTG GGGCGGTCAA TAATTGTGGA GAGGAGAGAA TGAGAGAGTG
1261 TGGAAAAAA AAGAATAATG ACCCGGCCCC CGCCCTCTGC CCCAGCTGC TCCTCGCAGT
1321 TCGGTTAATT GGTTAATCAC TTAACCTGCT TTTGTCACTC GGCTTTGGCT CGGGACTTCA
1381 AAATCAGTGA TGGGAGTAAG AGCAAATTTT ATCTTTCCAA ATTGATGGGT GGGCTAGTAA
25 1441 TAAAATATTT AAAAAAAAC ATTCAAAAAC ATGGCCACAT CCAACATTT CTCAGGCAAT
1501 TCCTTTTGAT TCTTTTTTCT TCCCCCTCCA TGTAGAAGAG GGAGAAGGAG AGGCTCTGAA
1561 AGCTGCTTCT GGGGGATTTC AAGGGACTGG GGGTGCCAAC CACCTCTGGC CCTGTTGTGG
1621 GGGTGTCA CA GAGGCAGTGG CAGCAACAAA GGATTTGAAA CTTGGTGTGT TCGTGGAGCC
1681 ACAGGCAGAC GATGTCAACC TTGTGTGAGT GTGACGGGG TTGGGGTGGG GCGGGAGGCC
30 1741 ACGGGGGAGG CCGAGGCAGG GGCTGGGCAG AGGGGAGAGG AAGCACAAGA AGTGGGAGTG
1801 GGAGAGGAAG CCACGTGCTG GAGAGTAGAC ATCCCCCTCC TTGCCGCTGG GAGAGCCAAG

1861 GCCTATGCCA CCTGCAGCGT CTGAGCGGCC GCCTGTCCTT GGTGGCCGGG GGTGGGGGCC
1921 TGCTGTGGGT CAGTGTGCCA CCCTCTGCAG GGCAGCCTGT GGGAGAAGGG ACAGCGGGTA
1981 AAAAGAGAAG GCAAGCTGGC AGGAGGGTGG CACTTCGTGG ATGACCTCCT TAGAAAAGAC
2041 TGACCTTGAT GTCTTGAGAG CGCTGGCCTC TTCCTCCCTC CCTGCAGGGT AGGGGGCCTG
5 2101 AGTTGAGGGG CTTCCCTCTG CTCCACAGAA ACCCTGTTTT ATTGAGTTCT GAAGGTTGGA
2161 ACTGCTGCCA TGATTTTGGC CACTTTGCAG ACCTGGGACT TTAGGGCTAA CCAGTTCTCT
2221 TTGTAAGGAC TTGTGCCTCT TGGGAGACGT CCACCCGTTT CCAAGCCTGG GCCACTGGCA
2281 TCTCTGGAGT GTGTGGGGGT CTGGGAGGCA GGTCCCGAGC CCCCTGTCCT TCCCACGGCC
2341 ACTGCAGTCA CCCCGTCTGC GCCGCTGTGC TGTGTCTGC CGTGAGAGCC CAATCACTGC
10 2401 CTATACCCCT CATCACACGT CACAATGTCC CGAATTCCCA GCCTCACCAC CCCTTCTCAG
2461 TAATGACCCT GGTGTTGTTGC AGGAGGTACC TACTCCATAC TGAGGGTGAA ATTAAGGGAA
2521 GGCAAAGTCC AGGCACAAGA GTGGGACCCC AGCCTCTCAC TCTCAGTTCC ACTCATCCAA
2581 CTGGGACCCT CACCACGAAT CTCATGATCT GATTTCGGTC CCTGTCTCCT CCTCCCGTCA
2641 CAGATGTGAG CCAGGGCACT GCTCAGCTGT GACCCTAGGT GTTCTGCCT TGTGACATG
15 2701 GAGAGAGCCC TTTCCCCTGA GAAGGCCTGG CCCCTTCCTG TGCTGAGCCC ACAGCAGCAG
2761 GCTGGGTGTC TTGGTTGTCA GTGGTGGCAC CAGGATGGAA GGGCAAGGCA CCCAGGGCAG
2821 GCCCAGAGTC CCGCTGTCCC CCACTTGCAC CCTAGCTTGT AGTGCCAAC CTCCCAGACA
2881 GCCCAGCCCG CTGCTCAGCT CCACATGCAT AGTATCAGCC CTCCACACCC GACAAAGGGG
2941 AACACACCCC CTTGGAAATG GTTCTTTTCC CCCAGTCCCA GCTGGAAGCC ATGCTGTCTG
20 3001 TTCTGCTGGA GCAGCTGAAC ATATACATAG ATGTTGCCCT GCCCTCCCCA TCTGCACCCT
3061 GTTGAGTTGT AGTTGGATTT GTCTGTTTAT GCTTGGATTC ACCAGAGTGA CTATGATAGT
3121 GAAAAGAAAA AAAAAAAAAA AAAAGGACGC ATGTATCTTG AAATGCTTGT AAAGAGGTTT
3181 CTAACCCACC CTCACGAGGT GTCTCTCACC CCCACACTGG GACTCGTGTG GCCTGTGTGG
3241 TGCCACCCTG CTGGGGCCTC CCAAGTTTTG AAAGGCTTTC CTCAGCACCT GGGACCCAAC
25 3301 AGAGACCAGC TTCTAGCAGC TAAGGAGGCC GTTCAGCTGT GACGAAGGCC TGAAGCACAG
3361 GATTAGGACT GAAGCGATGA TGTCCCCTTC CCTACTTCCC CTTGGGGCTC CCTGTGTCAG
3421 GGCACAGACT AGGTCTTGTG GCTGGTCTGG CTTGCGGCGC GAGGATGGTT CTCTCTGGTC
3481 ATAGCCCGAA GTCTCATGGC AGTCCCAAAG GAGGCTTACA ACTCCTGCAT CACAAGAAAA
3541 AGGAAGCCAC TGCCAGCTGG GGGGATCTGC AGCTCCCAGA AGCTCCGTGA GCCTCAGCCA
30 3601 CCCCTCAGAC TGGGTTCCCTC TCCAAGCTCG CCCTCTGGAG GGGCAGCGCA GCCTCCCACC
3661 AAGGGCCCTG CGACCACAGC AGGGATTGGG ATGAATTGCC TGTCTGGAT CTGCTCTAGA

3721 GGCCCAAGCT GCCTGCCTGA GGAAGGATGA CTTGACAAGT CAGGAGACAC TGTTCCCAAA
3781 GCCTTGACCA GAGCACCTCA GCCCCTGAC CTTGCACAAA CTCCATCTGC TGCCATGAGA
3841 AAAGGGAAGC CGCCTTTGCA AAACATTGCT GCCTAAAGAA ACTCAGCAGC CTCAGGCCCA
3901 ATTCTGCCAC TTCTGGTTTG GGTACAGTTA AAGGCAACCC TGAGGGACTT GGCAGTAGAA
5 3961 ATCCAGGGCC TCCCCTGGGG CTGGCAGCTT CGTGTGCAGC TAGAGCTTTA CCTGAAAGGA
4021 AGTCTCTGGG CCCAGAACTC TCCACCAAGA GCCTCCCTGC CGTTCGCTGA GTCCCAGCAA
4081 TTCTCCTAAG TTGAAGGGAT CTGAGAAGGA GAAGGAAATG TGGGGTAGAT TTGGTGGTGG
4141 TTAGAGATAT GCCCCCTCA TTAGTGCCAA CAGTTTCGGC TGCATTTCTT CACGCACCTC
4201 GGTTCCTCTT CCTGAAGTTC TTGTGCCCTG CTCTTCAGCA CCATGGGCCT TCTTATACGG
10 4261 AAGGCTCTGG GATCTCCCCC TTGTGGGGCA GGCTCTTGGG GCCAGCCTAA GATCATGGTT
4321 TAGGGTGATC AGTGCTGGCA GATAAATTGA AAAGGCACGC TGGCTTGTGA TCTTAAATGA
4381 GGACAATCCC CCCAGGGCTG GGCACCTCTC CCCTCCCCTC ACTTCTCCCA CCTGCAGAGC
4441 CAGTGTCTT GGGTGGGCTA GATAGGATAT ACTGTATGCC GGCTCCTTCA AGCTGCTGAC
4501 TCACTTTATC AATAGTTCCA TTAAATTGA CTTAGTGGT GAGACTGTAT CCTGTTTGCT
15 4561 ATTGCTTGTT GTGCTATGGG GGGAGGGGGG AGGAATGTGT AAGATAGTTA ACATGGGCAA
4621 AGGGAGATCT TGGGGTGCAG CACTTAAACT GCCTCGTAAC CCTTTTCATG ATTTCAACCA
4681 CATTTGCTAG AGGGAGGGAG CAGCCACGGA GTTAGAGGCC CTTGGGGTTT CTCTTTTCCA
4741 CTGACAGGCT TTCCAGGCA GCTGGCTAGT TCATTCCCTC CCCAGCCAGG TGCAGGCGTA
4801 GGAATATGGA CATCTGGTTG CTTTGGCCTG CTGCCCTCTT TCAGGGGTCC TAAGCCCACA
20 4861 ATCATGCCTC CTAAGACCT TGGCATCCTT CCCTCTAAGC CGTTGGCACC TCTGTGCCAC
4921 CTCTCACACT GGCTCCAGAC ACACAGCCTG TGCTTTTGGA GCTGAGATCA CTCGCTTCAC
4981 CCTCCTCATC TTTGTTCTCC AAGTAAAGCC ACGAGGTCGG GCGAGGGCA GAGGTGATCA
5041 CCTGCGTGTC CCATCTACAG ACCTGCAGCT TCATAAACT TCTGATTTCT CTTAGCTTTT
5101 GAAAAGGGTT ACCCTGGGCA CTGGCCTAGA GCCTCACCTC CTAATAGACT TAGCCCCATG
25 5161 AGTTTGCCAT GTTGAGCAGG ACTATTTCTG GCACTTGCAA GTCCCATGAT TTCTTCGGTA
5221 ATTCTGAGGG TGGGGGGAGG GACATGAAAT CATCTTAGCT TAGCTTTCTG TCTGTGAATG
5281 TCTATATAGT GTATTGTGTG TTTTAACAAA TGATTTACAC TGAAGTTGC TGTAAGAGTG
5341 AATTTGGAAT TAAAGTTATT ACTCTGATTA AA

(sec. con núm. de ident.: 160).

La secuencia de aminoácidos correspondiente de la isoforma 4 de la proteína Tau humana se puede encontrar en NP_058525.1:

```
1 MAEPRQEFEV MEDHAGTYGL GDRKDQGGYT MHQDQEGDTD AGLKAEEAGI GDTPSLEDEA
5 61 AGHVTQARMV SKSKDGTGSD DKKAKGADGK TKIATPRGAA PPGQKGQANA TRIPAKTPPA
121 PKTPPSSGEP PKSGDRSGYS SPGSPGTPGS RSRTPSLPTP PTREPKKVAV VRTPPKSPSS
181 AKSRLQTAPV PMPDLKNVKS KIGSTENLKH QPGGGKVQIV YKPVDSLKVT SKCGSLGNIH
241 HKPGGGQVEV KSEKLDKDR VQSKIGSLDN ITHVPGGGNK KIETHKLTFR ENAKAKTDHG
301 AEIVYKSPVV SGDTSPRHLS NVSSTGSIDM VDSPQLATLA DEVSASLAKQ GL
10 (sec. con núm. de ident.: 161).
```

Como se usa en la presente descripción, el término “tauopatía” se refiere a una enfermedad asociada con la expresión, secreción, fosforilación, escisión y/o agregación anormales de la proteína Tau.

```
15 Como se usa en la presente descripción, “TfR” se
refiere a un polipéptido o proteína receptora de
transferrina, p. ej., un polipéptido o proteína receptora
de transferrina humana o de ratón. La secuencia de
aminoácidos de la proteína receptora de transferrina
20 humana (hTFR) puede encontrarse en NP_001121620.1:
```

```
1 MMDQARSAFS NLFGEPLSY TRFSLARQVD GDNHVMKLV AVDEEENADN NTKANVTKPK
61 RCGSGICYGT IAVIVFFLIG FMIGYLG YCK GVEPKTECER LAGTESPVRE EPGEDFPAAR
121 RLYWDDLKRK LSEKLDSTDF TGTIKLLNEN SYVPREAGSQ KDENLALYVE NQFREFKLSK
181 VWRDQHFKVI QVKDSQNSV IIVDKNGRLV YLVENPGGYV AYSKAATVTG KLVHANFGTK
25 241 KDFEDLYTPV NGSIVIVRAG KITFAEKVAN AESLNAIGVL IYMDQTKFPI VNAELSFFGH
301 AHLGTGDPYT PGFPSFNHTQ FPPSRSSGLP NIPVQTISRA AAEKLFNGME GDCPSDWKTD
361 STCRMVTSSES KNVKLTVSNV LKEIKILNIF GVIKGFVEPD HYVVVGAQRD AWGPGAAGSG
421 VGTALLLKLA QMFSDMVLKD GFQPSRSIIF ASWSAGDFGS VGATEWLEGY LSSLHLKAFT
```

481 YINLDKAVLG TSNFKVSASP LLYTLIEKTM QNVKHPVTGQ FLYQDSNWS KVEKLTLDNA
541 AFPFLAYSIGI PAVSFCFCED TDYPYLGTTM DTYKELIERI PELNKVARAA AEVAGQFVIK
601 LTHDVELNLD YERYNSQLLS FVRDLNQYRA DIKEMGLSLQ WLYSARGDFF RATSRLTTDF
661 GNAEKTRDFV MKKLNDVRMR VEYHFLSPYV SPKESPFRHV FWGSGSHTLP ALLENLKLK
5 721 QNNGAFNETL FRNQLALATW TIQGAANALS GDVWDIDNEF (sec. con núm.
de ident.: 111).

La secuencia de aminoácidos de la proteína receptora de transferrina de ratón (mTFR, por sus siglas en inglés) puede encontrarse en NP_001344227.1:

10 1 MMDQARSAFS NLFGGEPLSY TRFSLARQVD GDNHVMKML AADEEENADN NMKASVRKPK
61 RFNGRLCFAA IALVIFFLIG FMSGYLG YCK RVEQKEECVK LAETEETDKS ETMETEDVPT
121 SSRLYWADLK TLLSEKLNSI EFADTIKQLS QNTYTPREAG SQKDESLAYY IENQFHEFKF
181 SKVWRDEHYV KIQVKSSIGQ NMVTIVQSNG NLDPVESPEG YVAFSKPTEV SGKLVHANFG
241 TKKDFEELSY SVNGSLVIVR AGEITFAEKV ANAQSFNAIG VLIYMDKNKF PVVEADLALF
15 301 GHAHLGTGDP YTPGFPSFNH TQFPPSQSSG LPNIPVQTIS RAAAEKLFGK MEGSCPARWN
361 IDSSCKLELS QNQNVLKLVK NVLKERRILN IFGVIKGYEE PDRYVVVGAQ RDALGAGVAA
421 KSSVGTGLLL KLAQVFSDMI SKDGRPSRS IIFASWTAGD FGAVGATEWL EGYLSSLHLK
481 AFTYINLDKV VLGTSNFKVS ASPLLYTIMG KIMQDVKHPV DGKSLYRDSN WISKVEKLSF
541 DNAAYPFLAY SGIPAVSFCF CEDADYPYLG TRLDTYEALT QKVPQLNQMV RTAAEVAGQL
20 601 IIKLTHDVEL NLDYEMYSK LLSFMKDLNQ FKTDIRDMGL SLQWLYSARG DYFRATSRLT
661 TDFHNAEKTN RFVMREINDR IMKVEYHFLS PYVSPRESPF RHIFWGSGSH TLSALVENLK
721 LRQKNITAFN ETLFRNQLAL ATWTIQGVAN ALSGDIWNID NEF (sec. con núm.
de ident.: 112).

Como se usa en la presente descripción,
25 “tratamiento” o “tratar” se refiere a todos los procesos en
donde puede haber una ralentización, control, retraso o
detención de la progresión de los trastornos o enfermedades
descritos en la presente, o mejora de los síntomas del

trastorno o la enfermedad, pero no necesariamente indica una eliminación total de todos los síntomas del trastorno o enfermedad. El tratamiento incluye la administración de una proteína o ácido nucleico o vector o composición para el
5 tratamiento de una enfermedad o afección en un paciente, particularmente en un ser humano.

Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no limitar, las invenciones reivindicadas.

10 Ejemplos

Ejemplo 1: Generación y caracterización de proteínas de unión a TfR

Generación de proteínas de unión a TfR humanos o de ratón

15 El anticuerpo contra TfR de ratón se generó mediante la inmunización de conejos blancos de Nueva Zelanda con el dominio extracelular (ECD, por sus siglas en inglés) de proteína del receptor de la transferrina 1 de ratón con una etiqueta his (mTfR-ECD-6His, sec. con núm. de ident.:
20 113, ver la Tabla 12). Las células B positivas para el antígeno mTfR se clasificaron a partir de sangre periférica y la unión de anticuerpos individuales clonados a partir de esas células B se verificó en mTfR marcada con his.

El anticuerpo contra TfR humano se generó
25 mediante la inmunización de ratones transgénicos AlivaMab® con los dominios extracelulares de proteína del receptor

de la transferrina 1 humana con una etiqueta his (hTfR-ECD-6His, sec. con núm. de ident.: 114, ver la Tabla 12) y proteína del receptor de la transferrina de ratón (mTfR, sec. con núm. de ident.: 110). Las células B positivas para
5 antígeno se clasificaron de los bazos agrupados. Se verificó la unión de anticuerpos individuales clonados a partir de esas células B a hTfR-ECD etiquetada con his.

Se generó un anticuerpo adicional contra TfR humano mediante la inmunización de ratones transgénicos
10 AlivaMab® con el dominio apical de proteína del receptor 1 de la transferrina humana con una etiqueta his (hTfR-ApD-6His, sec. con núm. de ident.: 115, ver la Tabla 12). Las células B positivas para antígeno se clasificaron de los bazos agrupados. Se verificó la unión de anticuerpos
15 individuales clonados a partir de esas células B a hTfR-ECD etiquetada con his.

Tabla 12. Secuencias de los inmunógenos usados para generar anticuerpos TfR humanos o de ratón.

Inmunógeno	Secuencia	Sec. con núm. de ident.
mTfR-ECD-6His	HHHHHHCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMETEDVPTSSRLYWADLKT LLSEKLNSIEFADTIKQLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIENQFHEFKF SKVVRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGLDPVESPEGYVAFSKPTE VSGKLVHANFGTKKDFEELSYVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAAQSFNA IGVLIYMDKNKFPVVEADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPFSQ SSGLPNIPVQTISRAAAEKLFKGMEGSCPARWNIDSSCKLELSQNQNVK LIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVVGQQRDALGAGVAAKSSVG TGLLLKLAQVFSMDISKDGFRRSRIIFASWTAGDFGAVGATEWLEGYL SSLHLKAFTYINLDKVVLTGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGK SLYRDSNWISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTR LDTYEALTQKVPQLNQMVRTAAEVAGQLIIKLTHDVELNLDYEMYSKL LSFMKDLNQFKTDIRDMLSLQWLYSARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTN	113

	RFVVMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRESFPRHIFWGS GSHTLSALVENL KLRQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF	
hTfR-ECD-6His	HHHHHHCKGVPEKTECERLAGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKL SEKLDSTDFGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQFREFKLSK VWRDQHFVKIQVKDSAQNSV IIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYS KAATVT GKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIG VLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSPRSS GLPNIPVQTI SRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLT VSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGA AKSGVGTAL LLKLAQMFSDMVLKDGFPQRSIIFASWSAGDFGSGATEWLEGYLSSL HLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLY QDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDT YKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLT HDVELNLDYERYNSQLLSF VRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFV MKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSPKESFPRHVFWGS GSHTLPALLENLKL KQNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF	114
hTfR-ApD-6His	HHHHHHHKGKPIPNPLLGLDSTGGGSDSAQNSV IIVDKNGRLVYLVEN PGGYVAYS KAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITF AEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGGGGGLPNI PVQTI SRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVS	115

Las variantes de afinidad de los anticuerpos TfR humanos o de ratón generados se realizaron introduciendo sistemáticamente mutaciones en CDR individuales de cada anticuerpo y las variantes resultantes se sometieron a múltiples rondas de selección con concentraciones decrecientes de antígeno y/o períodos crecientes de disociación para aislar clones con mejores afinidades. Las secuencias de variantes individuales se usaron para construir una biblioteca combinatoria que se sometió a una ronda adicional de selección con mayor rigor para identificar emparejamientos mutacionales aditivos o sinérgicos entre las regiones CDR individuales. Se secuencian los clones combinatorios individuales. Se proporcionan las CDR de cadena pesada y de cadena ligera y las secuencias VH/VL de los dominios de unión a TfR humanos TBD 1-7 en las Tablas 1-3. Se proporcionan las CDR de cadena

pesada y de cadena ligera y las secuencias VH/VL de la proteína de unión a TfR de ratón (mTBP1) en la Tabla 7.

Las proteínas de unión a TfR humanos o de ratón se generaron mediante tecnología de ADN recombinante. Tales proteínas de unión a TfR se pueden expresar en una línea celular de mamífero tal como HEK293 o CHO, transfectadas de manera transitoria o estable con un sistema de expresión que usa una relación de vector HC:LC predeterminada óptima o un sistema de vector único que codifica tanto HC como LC. Los medios clarificados, en los que se ha secretado el anticuerpo, se pueden purificar usando las técnicas comúnmente usadas.

Afinidades de unión a 25 °C

La afinidad de unión y la estequiometría de unión de las proteínas de unión a TfR de ratón ejemplificadas a TFR de ratón se determinaron usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial en un instrumento Biacore T200 cebado con HBS-EP+ (10 mM Hepes con pH 7,4 + 150 mM NaCl + 3 mM EDTA + 0,05 % (p/v) de surfactante P20) de tampón de funcionamiento y temperatura de análisis ajustada a 25 °C. Se inmovilizó un kit de captura de Fab humano (Cytiva P/N 28958325) en un chip CM5 (Cytiva P/N 29104988) usando el acoplamiento de amina NHS-EDC estándar en las cuatro celdas de flujo (Fc, por sus siglas en inglés). Las proteínas de unión a TfR de ratón se prepararon a 10 µg/ml mediante

dilución en tampón de funcionamiento. La diana (ratón TFR-mIgG1-Fc) se preparó a concentraciones finales de 100,0, 25,0, 6,25, 1,56, 0,39, 0,097, 0,024 y 0 (blanco) nM mediante dilución en tampón de funcionamiento.

5 Cada ciclo de análisis consiste en (1) capturar muestras de anticuerpos en celdas de flujo separadas (Fc2, Fc3 y Fc4); (2) la inyección de la concentración respectiva de Tfr sobre todo el Fc a 100 μ l/min durante 60 segundos seguido de retorno al flujo de tampón durante 1800 segundos
10 para monitorear la fase de disociación; (3) la regeneración de superficies de chips con inyección de glicina 10 mM, pH 1,5, durante 30 segundos a 10 μ l/min sobre todas las células; y (4) el equilibrio de superficies de chips con una inyección de 10 μ l (60 s) de HBS-EP+. Los datos se
15 procesaron usando doble referencia estándar y se ajustaron a un modelo de enlace 1:1 usando el software de evaluación Biacore T200, versión 2.0.3, para determinar la tasa de asociación (k_{on} , unidades $M^{-1}s^{-1}$), la tasa de disociación (k_{off} , unidades s^{-1}) y R_{max} (unidades RU). La constante de
20 disociación de equilibrio (K_D) se calcula a partir de la relación $K_D = k_{off}/k_{on}$, y está en unidades molares. Los resultados se proporcionan en la Tabla 13.

Tabla 13: Afinidad de unión de proteínas de unión a mTfR
ilustrativas a TFR de ratón a 25 °C.

Proteína o conjugado de unión a TfR de ratón	Diana	k_{on}	k_{off}	K_D
		$M^{-1}s^{-1}$	$s^{-1} (10^{-4})$	M
mTBP2	mTFR	2,1E5	1,03E-3	4,9E-9
Conjugado de mTBP2-ARNbc	mTFR	9,2E4	1,23E-3	1,3E-8

5 Estos resultados demuestran que la proteína de
unión a TfR de ratón y conjugado ilustrativos se unen a
TfR de ratón con alta afinidad a 25 °C.

La afinidad de unión y la estequiometría de unión
de las proteínas de unión a TfR humanos ilustrativas a TfR
10 humano y de Cynomolgus se determinaron usando un ensayo de
resonancia de plasmón superficial en un instrumento
Biacore 8K cebado con HBS-EP+ (10 mM Hepes con pH 7,4 +
150 mM NaCl + 3 mM EDTA + 0,05 % (p/v) de surfactante P20)
de tampón de funcionamiento y temperatura de análisis
15 ajustada a 25 °C. Se inmovilizó un anticuerpo anti-His en
un chip CM5 (Cytiva P/N 29104988) usando el acoplamiento
de amina de NHS-EDC estándar en las cuatro celdas de flujo
(Fc). Se preparó la diana (ECD TfR humano o de Cynomolgus)
en el tampón de funcionamiento a una concentración final
20 de 500 µg/ml. Las proteínas de unión a TfR se prepararon
a una concentración final de 1, 0,2, 0,04, 0,008 y

0,0016 μM respectivamente mediante la dilución de la solución de reserva en el tampón de funcionamiento.

El análisis de unión se realizó en una manera cinética de un solo ciclo. Cada ciclo de análisis consiste en (1) capturar las muestras diana (ECD de TfR humano o de *Cynomolgus* etiquetadas con His) en células de flujo separadas (Fc2, Fc3 y Fc4); (2) la inyección de la concentración más baja a más alta de anticuerpos o proteínas sobre todas las Fc a 30 $\mu\text{l}/\text{min}$ durante 900 segundos seguido de retorno al flujo de tampón durante 1800 segundos para monitorear la fase de disociación; (3) la regeneración de superficies de chips con inyección de glicina 10 mM, pH 1,5, durante 30 segundos a 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ sobre todas las células; y (4) el equilibrio de superficies de chips con una inyección de 10 μl (60 s) de HBS-EP+. Los datos se procesaron usando doble referencia estándar y se ajustaron a un modelo de enlace de 2 estados usando el software de evaluación Biacore 8K, para determinar la tasa de asociación (k_{on} , unidades $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$), la tasa de disociación (k_{off} , unidades s^{-1}) y $R_{\text{máx.}}$ (unidades RU). La constante de disociación de equilibrio (K_{D}) se calcula a partir de la relación $K_{\text{D}} = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$, y está en unidades molares. Los resultados se proporcionan en la Tabla 14A.

La línea endotelial humana hCMEC-D3 (EMD Millipore SC066), que expresa endógenamente TfR humano y la línea celular MDCK (ATCC CCL-34), diseñada por ingeniería para expresar TfR de *Cynomolgus* se utilizaron para evaluar la

unión de anticuerpos/proteínas a TfR unido a células. Las células se cultivaron y se mantuvieron en una confluencia máxima y se separaron del material de cultivo usando solución de desprendimiento de células Accutase, se lavaron y se asignaron a 50000 células por pocillo para evaluar la unión. Las células se trataron con una tinción de viabilidad y después se incubaron posteriormente con concentraciones tituladas de proteínas de unión a TfR en hielo. Se lavaron las células y se detectó la unión de los anticuerpos o proteínas de prueba usando un reactivo secundario etiquetado con PE. Después, las células se lavaron y se leyeron el mismo día usando un citómetro BioRad ZE5. El análisis se realizó después de la adquisición en FlowJo, analizando la fluorescencia de eventos únicos, viables y sin desechos. Los valores de EC50 se obtuvieron mediante el trazado de valores de intensidad de PE mediana geométrica en una titulación de muestra determinada y ajustando una curva de respuesta sigmoideal (4PL) en GraphPad Prism 8.3.0.

Tabla 14A: Afinidad de unión de proteínas de unión a TfR humano ilustrativas a TfR humano o de Cynomolgus a 25 °C o 0 °C.

Proteínas de unión a TfR humanos (TBP)	K _D de TfR humana (Biacore, nM) a 25 °C	K _D de TfR de Cyno (Biacore, nM) a 25 °C	EC50 (nM) de células hCMEC-D3 a 0 °C	EC50 (nM) de células MDCK de Cyno a 0 °C
TBP1	0,11	145	0,47	510
TBP2	0,27	1,1	0,65	1,08
TBP3	0,000048	0,015	0,14	0,15

TBP4	0,15	0,004	0,32	1,04
TBP5	0,59	1,47	4,83	1,63
TBP6	0,06	7,7	1,2	0,76
TBP7	0,67	0,86	0,15	0,82
TBP10	9,46	11,7	7,09	138
TBP11	3,28	25,5	2,19	10,3
TBP13	12,1	27,6	10,85	30,65
TBP12	0,0015	2,92	1,55	3,38
ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 38 en la Tabla 11b)	N/D	N/D	764,1	453,3
ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a)	N/D	N/D	298,4	225,3
ARNip de TBP15-MAPT (ARNbc núm. 39 en la Tabla 11b)	N/D	N/D	75,56	57,12
*N/D = no disponible				

Afinidad de unión a 37 °C

La afinidad de unión y la estequiometría de unión de las proteínas de unión a TfR humanos ilustrativas a TfR humano y de Cynomolgus se caracterizaron adicionalmente usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial en un instrumento Biacore 8K cebado con HBS-EP+ (10 mM Hepes con pH 7,4 + 150 mM NaCl + 3 mM EDTA + 0,05 % (p/v) de surfactante P20) de tampón de funcionamiento y temperatura de análisis ajustada a 37 °C. Se inmovilizaron el ECD de TfR humano y de Cynomologus diana en un chip CM4 (Cytiva P/N 29104989) usando el acoplamiento de amina de NHS-EDC estándar. Las proteínas de unión a TfR se prepararon a una concentración final de 0,3, 0,1, 0,033, 0,01, 0,0033,

0,001, 0,00033, 0,0001 μM respectivamente mediante la dilución de la solución de reserva en el tampón de funcionamiento.

El análisis de unión se realizó en una manera
5 cinética de múltiples ciclos. Cada ciclo de análisis consiste en (1) inyección de las proteínas de concentración más bajas a más altas sobre todas las Fc a 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ durante 140 segundos seguido de retorno a flujo de tampón durante 400 segundos para monitorear la fase de
10 disociación; (2) la regeneración de superficies de chips con inyección de cloruro de magnesio 3M, durante 30 segundos a 100 $\mu\text{l}/\text{min}$ sobre todas las células; y (3) el equilibrio de superficies de chips con una inyección de 50 μl (30 s) de HBS-EP+. Los datos se procesaron usando
15 doble referencia estándar y se ajustaron a un modelo de enlace de 2 estados usando el software de evaluación Biacore 8K, para determinar la tasa de asociación (k_{on} , unidades $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$), la tasa de disociación (k_{off} , unidades s^{-1}) y $R_{\text{máx}}$. (unidades RU). La constante de disociación de
20 equilibrio (K_{D}) se calcula a partir de la relación $K_{\text{D}} = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$, y está en unidades molares. Los resultados se proporcionan en la Tabla 14B.

Tabla 14B. Afinidad de unión de proteínas de unión a TfR humano ilustrativas a TfR humano o de Cynomolgus a 37 °C

Proteínas de unión a TfR humanos (TBP)	K _D de TfR humana (Biacore, nM) a 37 °C	Error estándar de la media, K _D de TfR humano (Biacore, nM) n=3	K _D de TfR de Cyno (Biacore, nM) a 37 °C	Error estándar de la media, K _D de TfR de Cyno (Biacore, nM) n=3
TBP3	0,005	0,001	0,254	0,041
TBP12	0,426	0,007	6,786	0,083
TBP4	2,030	0,771	6,935	1,222
TBP13	32,087	11,795	66,565	11,695
TBP2	0,169	0,037	0,162	0,075
TBP11	5,318	0,030	22,507	3,970
TBP1	0,966	0,536	>1000	1135,141
TBP6	2,246	1,191	92,541	12,818
TBP5	4,246	1,085	156,268	25,216
TBP7	0,838	0,420	3,539	0,938
TBP10	72,262	3,927	91,395	18,061
TBP14	153,642	7,949	300,180	2,565
TBP15	0,522	0,284	502,210	8,129
ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 38 en la Tabla 11b)	258,042	87,834	448,154	16,578
ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a)	541,002	22,259	>1000	376,948
ARNip de TBP15-MAPT (ARNbc núm. 39 en la Tabla 11b)	212,593	19,286	199,114	99,147

5 Mapeo de epítomos por espectrometría de masas de intercambio de hidrógeno y deuterio (HDX-MS)

Se realizó el intercambio de hidrógeno-deuterio acoplado con espectrometría de masas (HDX-MS, por sus siglas

en inglés) para determinar dónde se unen las proteínas de unión a TfR ilustrativas al dominio extracelular TfR humano (TfR-ECD, por sus siglas en inglés).

Se realizó la identificación de péptidos para
5 TfR-ECD humano en un instrumento Waters Synapt G2Si (Waters Corporation) usando 5 µg de proteína TfR-ECD humana en intercambio de cero (dilución 1:10 en solución salina tamponada con fosfato 0,1 X en H₂O) usando nepentesina II (Nep II) para la digestión, seguida del tratamiento con
10 PNGasaDj en línea. El espectrómetro de masas se configuró en HDMSe (modo ESI+ de movilidad) usando un rango de adquisición de masas de m/z 255,00–1950,00 con un tiempo de escaneo de 0,4 s. Los datos se procesaron usando PLGS 2.3.02 (Waters Corporation). Para los experimentos de
15 intercambio, se preparó el complejo de proteína TfR-ECD humana con proteína de unión a TfR individual en la relación molar de 1:1,2 en tampón de fosfato de sodio 10 mM, pH 7,4 que contenía NaCl 150 mM (tampón 1xPBS). El experimento se inició añadiendo 25 µl de tampón D₂O que contenía 0,1x de
20 PBS a 2,5 µl de TfR-ECD (0,9 mg/ml) o TfR-ECD + complejo proteico a 15 °C durante varios períodos de tiempo (0 s, 10 s, 2 min, 10 min y 60 min) usando un sistema de preparación de muestras TECAN personalizado (Espada et al. 2019, J Am Soc Mass Spectrom. 2019 Dic;30(12):2580–2583).
25 La reacción se inactivó usando un volumen igual de 0,32 M de TCEP, 3 M de HCl guanidina, 0,1 M de fosfato con pH 2,5

durante dos minutos a 4 °C y se congeló inmediatamente a -70 °C. El sistema de inyección de muestras estaba compuesto por un robot UR3, un automuestreador PAL3 HDX de LEAP, y un sistema de HPLC interconectado con un Waters Synapt G2Si (Waters Corporation), con modificación como se describió (Espada et al., 2019, J Am Soc Mass Spectrom. 2019 Dic;30(12):2580-2583.). Las fases móviles de LC consistieron en agua (A) y acetonitrilo (B), cada una con un 0,2 % de ácido fórmico. Cada muestra se descongeló usando 50 µl de 1,5 M de HCl guanidina, 0,1 M de fosfato con pH 2,5, durante 1 minuto y se inyectó en una columna Nep II para digestión a 4 °C con fase móvil A a una velocidad de flujo de 250 µl/min durante 2,5 minutos. Los péptidos resultantes se atraparon en una precolumna Waters BEH Vanguard a 4 °C, y se separaron cromatográficamente usando una columna analítica Waters Acquity UPLC BEH C18 a 4 °C con una velocidad de flujo de 200 µl/min y un gradiente de 3 % -85 % de fase móvil B durante 7 minutos y se dirigieron a un espectrómetro de masas para el análisis de masas. El Synapt G2Si se calibró con Glu-fibrinopéptido (Waters Corporation) antes de su uso. Los espectros de masas se adquirieron en el rango m/z de 255 a 1950 en modo HDMS, con la masa de bloqueo m/z de 556,2771 (Leucine Enkephalin, Waters Corporation). La incorporación relativa de deuterio para cada péptido se determinó procesando los datos de MS para muestras deuteradas junto con el control no deuterado

usando la lista de péptidos identificados en DynamX 3.0 (Waters Corporation). Los estados libres y unidos de TfR-ECD humano se compararon para las diferencias de incorporación de deuterio para identificar regiones protegidas indicativas del epítipo de unión. La cobertura general de secuencia para TFR ECD humano fue de 90,4 %.

Para la proteína 1 de unión a TfR humano (TBP1), se observó la disminución en la captación de deuterio tras la unión a TfR-ECD humano en los residuos 346-364 FGNMEGDCPSDWKTDSTCR (sec. con núm. de ident.: 119), lo que apunta a la región del epítipo probable. Para la proteína 13 de unión a TfR humano (TBP13), se observó la disminución en la captación de deuterio tras la unión a TfR-ECD humano en los residuos 243-247 (FEDLY) (sec. con núm. de ident.: 162) y 345-364 (LFGNMEEGDCPSDWKTDSTCR) (sec. con núm. de ident.: 163), lo que apunta a la región del epítipo probable. Para la proteína 10 de unión a TfR humano (TBP10), se observó la disminución en la captación de deuterio tras la unión a TfR-ECD humano en los residuos 243-247 (FEDLY) (sec. con núm. de ident.: 162), 259-263 (AGKIT) (sec. con núm. de ident.: 164), y 532-538 (VEKLTLTD (sec. con núm. de ident.: 165), lo que apunta a la región del epítipo probable.

Ejemplo 2: Síntesis y caracterización de ARNbc que se dirige a SNCA (p. ej., ARNip)

Las cadenas independientes (codificante y no
5 codificante) de los dúplex de ARNbc se sintetizaron en un
soporte sólido a través de un MerMade™ 12 (LGC Biosearch
Technologies). Las secuencias de las cadenas sentido y
antisentido se muestran en la Tabla 11. Las cadenas
codificantes se sintetizaron usando ftalamido amino C6 lcaa
10 CPG 500 Å (Chemgenes), mientras que las cadenas no
codificantes usaron soporte estándar (LGC Biosearch
Technologies). Los oligonucleótidos se sintetizaron mediante
química de fosforamidita en escalas de 5, 10 o 50 µmol.

Se usaron reactivos estándar en la síntesis de
15 oligonucleótidos (Tabla 16), donde se usó 0,1 M de hidruro
de xantano en piridina como reactivo de sulfuración y se
usó DEA al 20 % en ACN como lavado auxiliar después de la
síntesis. Todos los monómeros (Tabla 17) se prepararon a
0,1 M en ACN y contenían una bolsa con tamices moleculares.

20 Los oligonucleótidos se escindieron y
desprotegieron (C/D) a 45 °C durante 20 horas. Las cadenas
codificantes eran C/D de CPG usando 50 % frío (28-30 % de
metilamina/hidróxido de amoníaco) a temperatura ambiente
durante 3 h, mientras que se usó DEA al 3 % en hidróxido de
25 amoníaco (28-30 %, frío) para las cadenas no codificantes.
C/D se determinó completa mediante IP-RP LCMS cuando los

datos de masa resultantes confirmaron la identidad de la secuencia. Según la escala, el CPG se filtró a través de un filtro sin jeringa de PVDF de 0,45 μm , filtración al vacío Steriflip® de PVDF de 0,22 μm o liberación rápida Stericup® de PVDF de 0,22 μm . El CPG se volvió a lavar/enjuagar con EtOH al 30 %/agua libre de ARNasa después se filtró a través del mismo dispositivo de filtración y se combinó con el primer filtrado. Esto se repitió dos veces. Después, el material se dividió uniformemente en tubos Falcon de 50 ml para eliminar los compuestos orgánicos a través de Genevac™. Después de la concentración, los oligonucleótidos crudos se diluyeron nuevamente a la escala sintetizada con agua libre de ARNasa y se filtraron con un filtro sin jeringa de PVDF de 0,45 μm , filtración al vacío Steriflip® de PVDF de 0,22 μm o Stericup® de liberación rápida de PVDF de 0,22 μm .

Los oligonucleótidos crudos se purificaron mediante el sistema de purificación AKTA™ Pure usando intercambio aniónico (AEX, por sus siglas en inglés). Para AEX, una columna ES Industry Source™ 15Q que mantiene la temperatura de la columna a 65 °C con MPA: 20 mM de NaH_2PO_4 , ACN al 15 %, pH 7,4 y MPB: 20 mM de NaH_2PO_4 , 1 M de NaBr, ACN al 15 %, pH 7,4. Se combinaron las fracciones que contenían una pureza de masa superior al 85 % sin impurezas > 5 %.

Los oligonucleótidos purificados se desalinizaron usando tubos de centrifugación de 3K MWCO de 15 ml a 3500xg durante ~30 min. Los oligonucleótidos se

enjuagaron con agua libre de ARNasa hasta que la conductividad del eluyente alcanzó < 100 usemi/cm. Después de completar la desalinización, se añadieron 2-3 ml de agua libre de ARNasa, después se aspiró 10x, la retención se transfirió a un tubo falcon de 50 ml, esto se repitió hasta completar la transferencia de oligo al medir la concentración del compuesto en el filtro a través de nanodrop. Después, el oligonucleótido final se nanofiltró 2x mediante tubos de centrifugación de 100K MWCO de 15 ml a 3500xg durante 2 min. Se analizó la concentración de los oligonucleótidos desalinizados finales (nanodrop en A260), caracterizada por IP-RP LC/MS para pureza de masa (Tabla 15) y UPLC para pureza UV.

Tabla 15: Datos de LC/MS ilustrativos

15

Núm. de ARNbc	Cadena	MW cal. (g/mol)	MW obs. (g/mol)
8	S: sec. con núm. de ident.: 93	7138,86	7139,0
	AS: sec. con núm. de ident.: 94	7825,19	7826,3
9	S: sec. con núm. de ident.: 95	7150,9	7151,5
	AS: sec. con núm. de ident.: 96	7813,15	7813,7
10	S: sec. con núm. de ident.: 95	7150,89	7151,5
	AS: sec. con núm. de ident.: 97	7813,15	7813,14
11	S: sec. con núm. de ident.: 95	7150,89	7151,5
	AS: sec. con núm. de ident.: 98	7801,11	7813,8
12	S: sec. con núm. de ident.: 99	7318,95	7319,2
	AS: sec. con núm. de ident.: 94	7825,19	7826,3
13	S: sec. con núm. de ident.: 100	7162,88	7163,3

	AS: sec. con núm. de ident.: 101	7802,15	7802,1
14	S: sec. con núm. de ident.: 102	7084,8	7085,4
	AS: sec. con núm. de ident.: 103	7772,12	7772,6
15	S: sec. con núm. de ident.: 104	7329,03	7329,3
	AS: sec. con núm. de ident.: 105	7557,91	7557,91
16	S: sec. con núm. de ident.: 106	7329,03	7329,3
	AS: sec. con núm. de ident.: 107	7795,16	7795,6
17	S: sec. con núm. de ident.: 108	7264,9	7265,3
	AS: sec. con núm. de ident.: 107	7795,16	7795,6
18	S: sec. con núm. de ident.: 117	7022,83	7024
	AS: sec. con núm. de ident.: 97	7813,15	7813,14
19	S: sec. con núm. de ident.: 118	7010,8	7011,3
	AS: sec. con núm. de ident.: 97	7813,15	7813,14
24	S: sec. con núm. de ident.: 141	6955,67	6956,6
	AS: sec. con núm. de ident.: 96	7813,15	7813,7
25	S: sec. con núm. de ident.: 141	6955,67	6956,6
	AS: sec. con núm. de ident.: 97	7813,15	7813,14
35	S: sec. con núm. de ident.: 126	7337,06	7338,1
	AS: sec. con núm. de ident.: 127	7518,87	7519,7
37	S: sec. con núm. de ident.: 130	7177	7178
	AS: sec. con núm. de ident.: 131	7677,98	7678,8
38	S: sec. con núm. de ident.: 132	7349,09	7348,5
	AS: sec. con núm. de ident.: 133	7506,84	7507,4
39	S: sec. con núm. de ident.: 134	7229,96	7230,5
	AS: sec. con núm. de ident.: 135	7749,1	7748,2
40	S: sec. con núm. de ident.: 136	7189	7188,4

	AS: sec. con núm. de ident.: 137	7665,95	7667,2
--	----------------------------------	---------	--------

Tabla 16 - Reactivos para la síntesis de oligonucleótidos

Reactivos
Solución activadora (ETT 0,5 M en ACN)
Cierre A (anhídrido acético, piridina en THF, 1:1:8)
Cierre B (1-metilimidazol en THF, 16:84)
Solución de oxidación (yodo 0,02 M en THF/piridina/agua, 70:20:10)
Solución de desbloqueo, TCA al 3 % en DCM (p/v)
Acetonitrilo (Anhydrosolv, máx. agua 10 ppm)
Hidruro de xantano (0,1 M en piridina)
Dietilamina (20 % en acetonitrilo)

5 Tabla 17 - Fosforamiditas

Fosforamidita	Abreviatura	Proveedor	Núm. de catálogo	CAS
DMT-2'-FA(Bz)-CE Fosfoamidita	fA	Hongene	PD1-001	136834-22-5
DMT-2'-F-C(Ac)-CE Fosfoamidita	fC	Hongene	PD3-001	159414-99-0
DMT-2'-FG(iBu)-CE Fosfoamidita	fG	Hongene	PD2-002	144089-97-4
DMT-2'-F-U-CE Fosfoamidita	fU	Hongene	PD5-001	146954-75-8
DMT-2'-O-Me-A(Bz)-CE Fosfoamidita	mA	Hongene	PR1-001	110782-31-5
DMT-2'-O-Me-C(Ac)-CE Fosfoamidita	mC	Hongene	PR3-001	199593-09-4
DMT-2'-O-Me-G(iBu)-CE Fosfoamidita	mG	Hongene	PR2-002	150780-67-9
DMT-2'-O-Me-U-CE Fosfoamidita	mU	Hongene	PR5-001	110764-79-9

5'bis(POM) vinyl fosfato-2'-Ome-U3'CE fosforoamidita	POM-VPmU	Hongene	PR5-032	BVPMUP23B2A1
Fosforoamidita abásica inversa	iAb	Chemgenes	ANP-1422	401813-16-9
Fosforoamidita abásica	Aba	Chemgenes	ANP-7058	129821-76-7

Ejemplo 3: Generación de conjugados de proteínas de unión a TfR conjugados de ARNbc

5 Ciertas abreviaturas se definen de la siguiente manera: “ACN” se refiere a acetonitrilo; “aAEX” se refiere a intercambio aniónico analítico; “AS” se refiere a una cadena no codificante; “DAR” se refiere a la relación de fármaco/ARNip a anticuerpo/proteína; “DCM” se refiere a

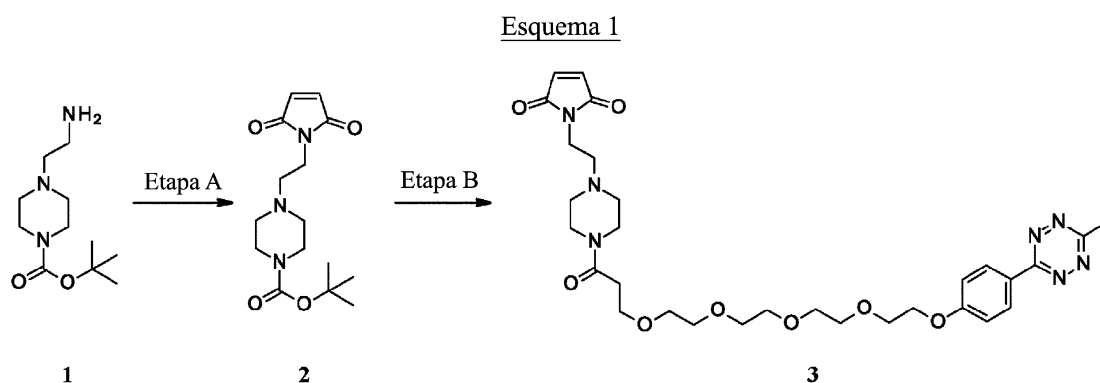
10 diclorometano; “DHAA” se refiere a ácido deshidroascórbico; “DIEA” se refiere a N,N-diisopropiletilamina; “DMF” se refiere a dimetilformamida; “ARNbc” se refiere a ácido ribonucleico bicatenario; “DTT” se refiere a ditiotreitól; “EtOAc” se refiere a acetato de etilo; “FEP” se refiere a

15 etileno propileno fluorado; “FMI” se refiere a Fluid Metering Inc; “h” se refiere a horas; “HATU” se refiere a hexafluorofosfato de azabenzotriazol tetrametil uranio; “HPLC” se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento; “LC/MS” se refiere a espectrometría de masas- cromatografía líquida; “LTQ/MS” se refiere a un

20 espectrómetro de masas de trampa de iones lineales; “min” se refiere a minutos; “MTBE” se refiere a metil *terc*-butil

éter; “MW” se refiere al peso molecular; “NHS” se refiere a N-hidroxisuccinimida; “OD” se refiere a la densidad óptica; “PBS” solución salina tamponada con fosfato; “PEG” se refiere a polietilenglicol; “rpm” se refiere a revoluciones
 5 por minuto; “SEC” se refiere a cromatografía de exclusión por tamaño; “ARNip” se refiere a un ARN de interferencia pequeño; “SMCC” se refiere a succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato; “SS” se refiere a una cadena codificante; “TCO” se refiere a transcicloocteno; “TEA” se refiere a trietilamina; “TFA” se refiere a ácido trifluoroacético; “TfR” se refiere al receptor de transferrina; “THF” se refiere a tetrahidrofurano; “TRIS” se refiere a tris(hidroximetil)aminometano; y “UV” se refiere a ultravioleta.

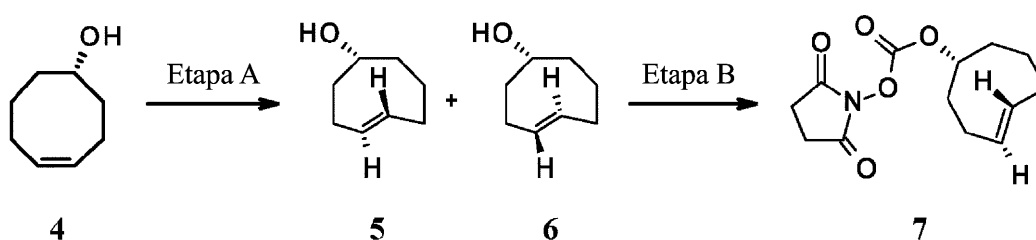
15



El Esquema 1, etapa A representa el acoplamiento del compuesto (1) y la furan-2,5-diona en un disolvente tal
 20 como ácido acético seguido del tratamiento con anhídrido

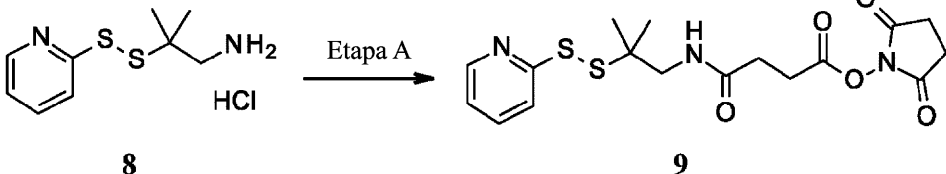
acético y acetato de sodio en un disolvente tal como el tolueno para dar el compuesto (2). La etapa B muestra la desprotección ácida del compuesto (2) con un ácido tal como TFA en un disolvente adecuado tal como DCM seguido de un
 5 acoplamiento de amida con metiltetrazina-PEG4-ácido usando un reactivo de acoplamiento de amida tal como HATU con una base apropiada tal como N,N-diisopropil amina en un sistema disolvente tal como DMF y THF para obtener el compuesto (3). Un experto en la técnica reconocerá que se puede usar
 10 una variedad de reactivos de acoplamiento, bases y disolventes para realizar un acoplamiento de amida.

Esquema 2



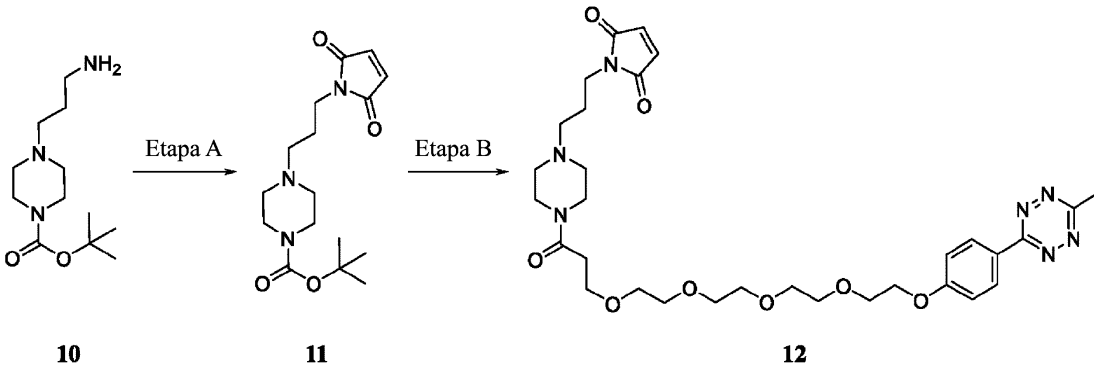
15 El esquema 2, etapa A representa la transformación de un compuesto de cis-olefina (4) a los compuestos de olefina trans (5) y (6) mediante el uso de un aparato de flujo de bucle cerrado usando irradiación y captura en una columna de nitrato de plata absorbida sobre gel de sílice. La etapa B
 20 muestra la reacción del compuesto (5) con carbonato de N,N'-disuccinimidilo usando una base adecuada tal como TEA en un disolvente tal como ACN para obtener el compuesto (7).

Esquema 3



15

Esquema 4

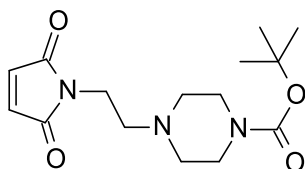


El Esquema 4, etapa A representa el acoplamiento del compuesto (10) y la furan-2,5-diona en un disolvente tal como ácido acético seguido del tratamiento con TEA en un disolvente tal como el tolueno para obtener el compuesto (11). La etapa B representa la conversión del compuesto (11) al compuesto (12) de una manera esencialmente análoga al esquema 1, etapa B.

Preparación 1

10

4-[2-(2,5-dioxopirrol-1-il)etilo]piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo



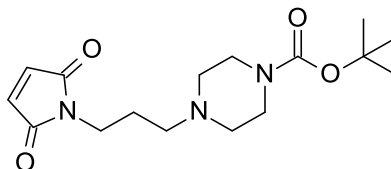
15

Se disolvió 4-(2-aminoetil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,00 g, 13,1 mmol) en ácido acético (6 ml). Se añadió furan-2,5-diona (1,28 g, 13,1 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 7 horas. Después, la mezcla se almacenó en un refrigerador durante 18 horas. Se eliminó la mayor parte del ácido acético al vacío a 50 °C. Se añadió anhídrido acético (10 ml, 106 mmol) y acetato de sodio (1,6 g, 20 mmol) y después se calentó a 80 °C durante 2 horas. Se añadió tolueno y se eliminó la mayor parte del

anhídrido acético al vacío. La mezcla se llevó a cloruro de amonio acuoso saturado (60 ml) y se extrajo con DCM (3 × 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener el producto crudo como un aceite oscuro. Se purificó mediante cromatografía con gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano, obteniéndose el compuesto del título (2,1 g, 52 %). LC/MS m/z 310,3 (M+H).

10 Preparación 2

4-[3-(2,5-dioxopirrol-1-il)propil]piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo



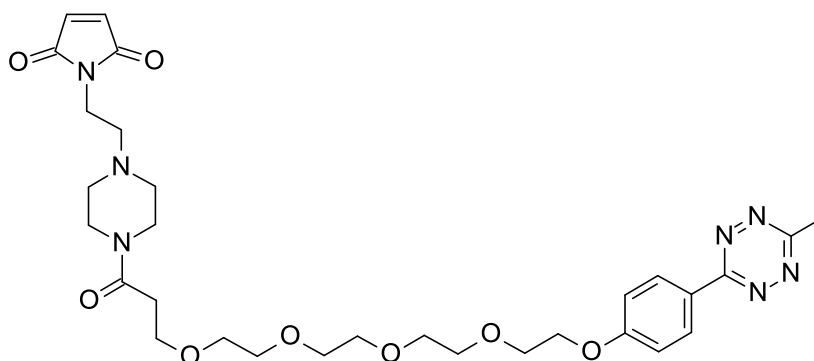
15

Se añadió furan-2,5-diona (789 mg, 7,97 mmol) a una solución de 4-(3-aminopropil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,00 g, 7,97 mmol) en ácido acético (8 mL, 140 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas y después se concentró al vacío para obtener el intermediario crudo (Z)-4-[3-(4-*terc*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)propilamino]-4-oxo-but-2-ácido enoico (2,72 g, 7,97 mmol) que después se disolvió

en tolueno (80 ml). Se añadieron TEA (5,6 ml, 40 mmol) y tamices moleculares de 4 Å (8,8 g). El matraz estaba equipado con una trampa Dean-Stark y la mezcla se calentó a 120 °C durante 48 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, los sólidos se eliminaron por filtración y se lavaron con DCM (40 ml). Los volátiles se eliminaron a presión reducida para dar un residuo que se secó al vacío. El residuo espeso se purificó mediante cromatografía de fase normal eluyendo con (MeOH/MTBE al 10 %)/DCM para obtener el compuesto del título como un polvo amarillo, escamoso (353 mg, 13,7 %). LC/MS m/z 324 (M+H).

Preparación 3

1-[2-[4-[3-[2-[2-[2-[2-[4-(6-metilo-1,2,4,5-tetrazina-3-il)fenoxi]etoxi]etoxi]etoxi]etoxi]propanoil]piperazina-1-il]etil]pirrol-2,5-diona



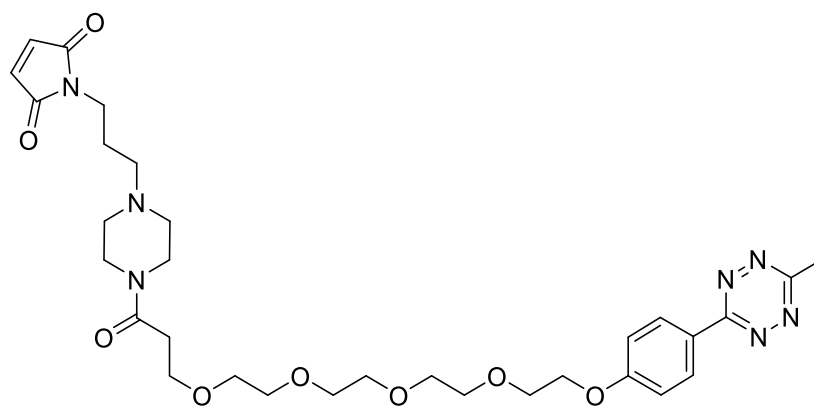
Se disolvió 4-[2-(2,5-dioxopirrol-1-il)etilo]piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (150 mg, 0,485 mmol) en DCM (2 ml). Se añadió TFA (1 ml, 13 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se concentró al vacío y se secó adicionalmente a alto vacío durante 18 horas para obtener el trifluoroacetato de 1-(2-piperazin-1-iletíl)pirrol-2,5-diona intermediario. Este material y el ácido metiltetrazina-PEG4 (130 mg, 0,283 mmol) se disolvieron en DMF (2,0 ml) y THF (2 ml). Después se añadió HATU (380 mg, 0,969 mmol) seguido de N,N-diisopropilamina (0,45 ml, 2,6 mmol). Se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se diluyó con DCM (50 ml) y se lavó con cloruro de amonio acuoso saturado (30 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el producto crudo como un sólido rojo. Se purificó mediante cromatografía con gel de sílice eluyendo con MeOH/EtOAc al 0-20 %, obteniéndose el compuesto del título como un sólido rojo (150 mg, 49 %). LC/MS m/z 628,6 (M+H).

20

Preparación 4

1-[3-[4-[3-[2-[2-[2-[2-[4-(6-metilo-1,2,4,5-tetrazina-3-il)fenoxi]etoxi]etoxi]etoxi]etoxi]propanoil]piperazina-1-il]propil]pirrol-2,5-diona

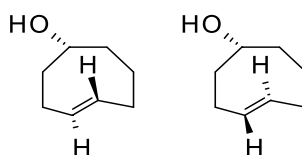
25



El compuesto del título se preparó usando 4-[3-(2,5-dioxopirrol-1-il)propil]piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo de una manera esencialmente análoga a los métodos encontrados en la Preparación 3. LC/MS m/z 642 ($M+H$).

Preparación 5

(1R,4E)-ciclooct-4-en-1-ol (axial) y (1R,4E)-ciclooct-4-en-1-ol (ecuatorial)



Se ensambló un aparato de flujo de bucle cerrado que permitió la irradiación de una solución de *cis*-olefina y el ciclo de dicha solución a través de un cartucho de gel de sílice absorbido con nitrato de plata. Solo la *trans*-

olefina se retiene en el gel de sílice, por lo tanto, la olefina cis se recicla nuevamente a la etapa de irradiación.

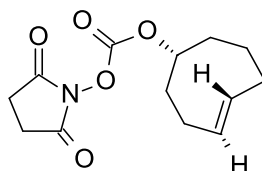
Equipo: (A) Lámpara UV (Pen-Ray 099912-1, 254 nm), fuente de alimentación 99-0055-01 Corriente de lámpara 18 mA/AC. Según la descripción del fabricante, esta lámpara produce entre 4400 y 4750 microvatios/cm² de intensidad a 0,75" para una luz de 254 nm. (B) Bomba FMI ajustada a 10 mL/min que extrae la mezcla de reacción de un matraz de fondo redondo Pyrex® (250 mL). Esto se conectó a un tubo FEP de 1/16" que se envolvió alrededor de un dedo frío (bucle total de 7 mL, enfriamiento con aire). La lámpara UV se colocó en el centro del dedo frío para irradiar la muestra con enfriamiento con aire. Después de la irradiación, el tubo de muestra continuó en un ISCO SLM que contenía 25 g de gel de sílice impregnado con nitrato de plata (ver Fox, et. al., Angewandte Chemie, International Edition Engl 2009, 48(38), 7013-7016; Synthesis 2018, 50, 4875).

Se realizaron las siguientes etapas. Se depositaron 25 g de nitrato de plata impregnado con gel de sílice en la parte superior en un cartucho de gel de sílice de 50 g, se cubrieron con papel de aluminio y se acondicionaron bombeando la mezcla de disolventes de hexanos/dietil éter 1:1 durante 1 h. Se mezcló (4Z)-ciclooct-4-en-1-ol; racémico en la posición de hidroxilo (2,00 g, 15,8 mmol) y benzoato de metilo (2,0 mL, 16 mmol) en n-hexano (220 mL) y dietil éter (220 mL), se encendió la lámpara UV y

se hizo circular la solución a través de la bobina alrededor del dedo frío a través del cartucho de gel de sílice/nitrato de plata y nuevamente a través del sistema a un caudal de 10 mL/min durante 96 h. Se lavó el cartucho de sílice con EtOAc (200 mL) y se secó con aire. Se desechó el filtrado. Se enjuagó el cartucho de sílice seco con NH₄OH concentrado (150 ml) seguido de DCM (150 ml). Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con DCM (2 × 50 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con cloruro de sodio acuoso saturado, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Se purificó mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con MTBE/hexano al 0-45 % para proporcionar los dos productos como líquidos transparentes. Axial - (1R,4E)-ciclooct-4-en-1-ol (569,8 mg, 28,5 %). ¹H NMR (CDCl₃) 5,63-5,55 (m, 1H), 5,44-5,36 (m, 1H), 3,50-3,45 (m, 1H), 2,39-2,32 (m, 3H), 2,00-1,94 (m, 4H), 1,73-1,66 (m, 3H). Ecuatorial - (1R,4E)-ciclooct-4-en-1-ol (673,6 mg, 33,7 %). ¹H NMR (CDCl₃): 5,60-5,57 (m, 2H), 4,05 (dd, J= 5,3, 10,2 Hz, 1H), 2,44-2,37 (m, 1H), 2,29-2,22 (m, 2H), 2,18-2,13 (m, 2H), 1,93-1,86 (m, 4H), 1,32-1,25 (m, 1H).

Preparación 6

Carbonato de [(1R,4E)-ciclooct-4-en-1-il] (2,5-dioxopirrolidin-1-il)

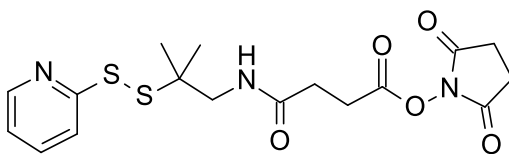


Se añadió carbonato de N,N'-disuccinimidilo (2,79 g, 10,3 mmol) en pequeñas porciones (~250-300 mg cada
 5 adición, con cinco minutos de diferencia) a una mezcla de 1R,4E)-ciclooct-4-en-1-ol (axial) (569 mg, 4,50 mmol) y TEA (2,5 mL, 18 mmol) en ACN (25 mL). La mezcla se cubrió con papel de aluminio y se agitó a temperatura ambiente durante 60 horas. Se eliminó el disolvente a presión reducida para
 10 dar un aceite que se repartió entre agua (20 ml) y éter dietílico (50 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 × 50 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con cloruro de amonio saturado, después con cloruro de sodio acuoso saturado, se
 15 secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Se usó la cromatografía con gel de sílice para purificar y se eluyó con 0-60 % de MTBE/hexanos, obteniéndose el compuesto del título como un residuo incoloro que formó un sólido blanco (732 mg, 61 %). LC/MS *m/z* 324 (M+H).

20

Preparación 7

(2,5-dioxopirrolidin-1-il) 4-[[2-metilo-2-(2-piridildisulfanil)propilo]amino]-4-oxo-butanoato



Se añadieron juntos clorhidrato de 2-metil-2-(2-
 5 piridildisulfanil)propan-1-amina (245 mg, 0,976 mmol),
 anhídrido glutárico (112 mg, 0,972 mmol) y DIEA (360 μ L,
 2,16 mmol) en THF (4 mL) y se calentaron a 45 °C durante
 12 h con agitación vigorosa. Después de este tiempo, la
 mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadieron
 10 clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
 (224 mg, 1,17 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (25 mg,
 0,20 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente
 durante 5 min antes de añadir N-hidroxisuccinimida (126 mg,
 1,07 mmol) de una sola vez con posterior agitación durante
 15 36 horas. La mezcla se filtró y el filtrado resultante se
 depositó directamente en gel de sílice (2 g). Se usó
 cromatografía en gel de sílice para purificar y eluir con
 EtOAc/hexanos al 75 % para proporcionar el compuesto del
 título como un residuo turbio claro (100,2 mg, 24 %). LC/MS
 20 m/z 426 (M+H) (éster de NHS hidrolizado).

TCO-Funcionalización de SNCA

En un conjunto de tubos Falcon™ de 4 × 50 mL, se
 dividió por igual (10 mL cada uno) la cadena codificante del

ARNbc de SNCA con una cadena de hexilamina unida en el extremo 3' (SNCA_SS-3C6A) (se calculó que la concentración de SS medida en OD/mL fue de 412,5 o 2 mM, 120 mL, 0,24 mmol) y el regulador de borato 20X (6 mL) y cada uno se trató con 7,5 mL de una solución de carbonato de [(1R,4E)-ciclooct-4-en-1-il] (2,5-dioxopirrolidin-1-il) (1,65 g, 6,17 mmol) disuelta en 1,4-dioxano (100 mL). Se mezcló a 25 °C a 600 rpm durante 30 min. El resto de la muestra de SS se dividió y se hizo reaccionar de la misma manera para obtener un total de 12 recipientes de muestra, cada uno con ~150 mg de material de partida de SS cruda. El dioxano se eliminó colocando tubos Falcon™ en un evaporador Genevac. Las soluciones acuosas restantes se combinaron y se filtraron para eliminar cualquier sólido suspendido. Se purificó en un sistema de cromatografía pura AKTA™ usando ACN al 13-45 % en 50 mM de NaOAc (ac.) con una velocidad de flujo = 40 ml/min. Se combinaron las fracciones adecuadas y se eliminaron los compuestos orgánicos en un SpeedVac™ antes de desalinizar y concentrar para obtener 214 ml, lo que midió OD/ml de 127,3 que equivalen a 624 µM y un total de 973 mg. LTQ/MS *m/z* 7292; pureza UV de 99+ %.

Dúplex TCO-SNCA

Las concentraciones de nanodrop para las soluciones acuosas de cada cadena (promedio de 5x) se midieron como SS = 624 µM y AS = 1094 µM. Se mezclaron

210 ml de SS y 113,7 ml de AS, después se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se midió la cantidad de cadena residual de SS hasta que se completó y se requirió añadir 21,9 ml adicionales de AS. Los 345 ml resultantes de la solución midieron (Nanodrop™ Lite, promedio de 6x, dilución de 20x) OD/ml de 159,5 que equivale a 421 μ M y un total de 2,19 g. LTQ/MS m/z 7291,7825; pureza de UV > 99 %.

SMCC-Funcionalización de SNCA en ARNbc

Se añadió una solución recién preparada de (2,5-dioxopirrolidin-1-il) 4-[(2,5-dioxopirrol-1-il)metil]ciclohexancarboxilato (185 mg, 0,542 mmol) en THF (50 mL) a SNCA_SS-3C6A (44 mL, 0,0528 mmol; OD/mL de 250,4 o ~1200 μ M (~8,8 mg/mL)) en regulador de fosfato 0,2 M (44 mL). Se agitó vigorosamente durante 2 minutos y después se agitó a temperatura ambiente a 900 rpm durante 2 horas en total. El análisis por LTQ mostró una conversión de aproximadamente 94-95 %. Se acidificó a pH~4 con 20-30 gotas de HCl 5N, y después se eliminó los orgánicos en un concentrador Genevac. Se desalinizó por filtración centrífuga en un filtro giratorio de 3K (4 × 4000 rpm, 30 min) y se agruparon los retenidos. La medición OD de la solución (promedio de 3 mediciones, dilución 10x) fue 266 equivalente a 1,3 mM y un total de 316 mg. El coeficiente de extinción fue de 204,12. LTQ/MS m/z 7358.

Dúplex SMCC-SNCA

Las concentraciones de nanodrop de soluciones acuosas de cada cadena (promedio de 3x) se midieron como SS = 1322 μ M y AS = 1108 μ M. Se mezclaron 32 ml de SS y 5 36,2 ml de AS y se agitaron durante 30 min a 30 °C. Se midió la cantidad de cadena residual de SS hasta que se completó y se requirió añadir 360 μ l adicionales de AS. Las endotoxinas se eliminaron al filtrar a través de un filtro de 0,45 μ M. Los 75 ml resultantes de solución 10 medidos (Nanodrop™ Lite, promedio de 5x, dilución de 10x) 217 OD/ml equivalen a 575 μ M y un total de 653 mg. LTQ/MS *m/z* 7358,7825; pureza UV de 99+ %.

GDM-Funcionalización de SNCA

15 En un tubo Falcon™ de 15 mL, se diluyó SNCA_SS-3C6A (se calculó que la concentración de SS medida en OD/mL fue de 247,6 o 1,21 mM, 3 mL, 0,0036 mmol) con regulador de borato 20x (0,3 mL) y agua (3 mL, 166,530 mmol) y después se añadió (2,5-dioxopirrolidin-1-il) 5-[[2-metil- 20 2-(2-piridildisulfanil)propil]amino]-5-oxo-pentanoato (3,6 mL, 0,75 M en dioxano). Se mezcló a 200 rpm durante 1 h. Los productos orgánicos se eliminaron con un SpeedVac™, se desalinizaron y se concentraron tres veces con agua, obteniéndose SNCA_SS-3C6A-GDM con un rendimiento 25 total de 13,2 mL (OD/mL de 35,88, que equivale a 175,8 μ M

y un total de 17,3 mg). El coeficiente de extinción fue 204,12. MS LTQ1 m/z 7449 (95+ % de pureza UV).

Se añadió clorhidrato de 2 tris(2-carboxietil)fosfina (75 μ L de solución 100 mM en agua) a
5 SNCA_SS-3C6A-GDM. Se agitó a 10 °C durante 4 horas y después
16 horas a temperatura ambiente. Se añadió clorhidrato de
tris(2-carboxietil)fosfina adicional (75 μ L de solución
100 mM en agua) y se agitó durante 16 horas adicionales. Se
desalinizó por filtración centrífuga en un filtro giratorio
10 de 3K (3 $\times$ 40 min, 4000 rpm) y se agruparon los retenidos
para proporcionar 10 ml. La medición OD de la solución
(promedio de 4 mediciones, dilución 10x) fue 63,6 equivalente
a 311,4 μ M y un total de 22,9 mg. El coeficiente de extinción
fue de 204,12. LTQ/MS m/z 7340; pureza UV de 99+ %.

15

Etapas de hibridación de GDM

Las concentraciones de nanodrop de las
soluciones acuosas de cada cadena (promedio de 4x) son SS
= 311,4 μ M y AS = 431,3 μ M. Se mezclaron 10 ml de SS y
20 6,7 ml de AS con 5 ml de agua y se agitaron durante 30
min. Se midió la cantidad de cadena residual de SS hasta
que se completó y se requirió añadir 560 μ L adicionales de
AS. Se concentró en un filtro de corte de MW de 3K (20
min), después se filtró por rotación de 50k y se concentró
25 aún más a través de un filtro de 3K. Los 6 ml de solución
resultantes midieron (Nanodrop™ Lite, promedio de 5x,

dilución de 20x) 181,62 OD/ml equivalen a 486 μ M y un total de 44,2 mg. LTQ/MS m/z 7340,7825; pureza UV de 99+ %.

La funcionalización y la hibridación del ARNbc de MAPT se pueden realizar de la misma manera que el ARNbc de SNCA descrito anteriormente.

Conjugación de ARNbc con proteínas de unión a TfR

Se usaron residuos de aminoácidos de cisteína nativos o diseñados por ingeniería específicos del sitio en las proteínas de unión a TfR para conjugar el ARNbc. Las citocinas se pueden diseñar por ingeniería en la secuencia de aminoácidos primaria de las proteínas de unión a TfR. El enfoque de introducir cisteínas como medio para la conjugación se ha descrito en WO 2018/232088, que se incorpora como referencia en su totalidad y se incorpora específicamente en relación con la conjugación mediante residuos de cisteína. Para la conjugación de cisteína diseñada por ingeniería, las proteínas de unión a TfR se redujeron primero con 40 equivalentes molares del agente reductor ditioneitol (DTT) a 37 °C durante dos horas, seguido de desalinización para eliminar el agente reductor mediante diálisis o columnas de desalinización. A esto le sigue la reoxidación de la proteína de unión a TfR para reformar los disulfuros estructurales con una incubación de ácido dehidroascórbico (DHAA, por sus siglas en inglés) equivalente a 10 molar a temperatura ambiente durante dos

horas. Se realizó una desalinización de seguimiento para eliminar el agente oxidante.

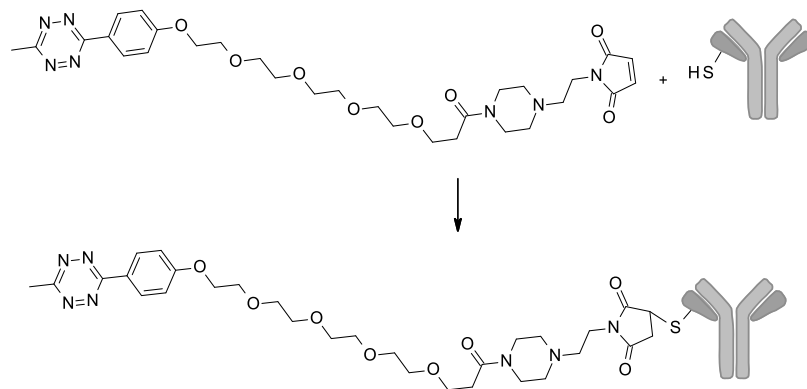
La conjugación del ARNbc en proteínas de unión a TfR se realizó usando los siguientes métodos.

5

Esquema 1 de conjugación

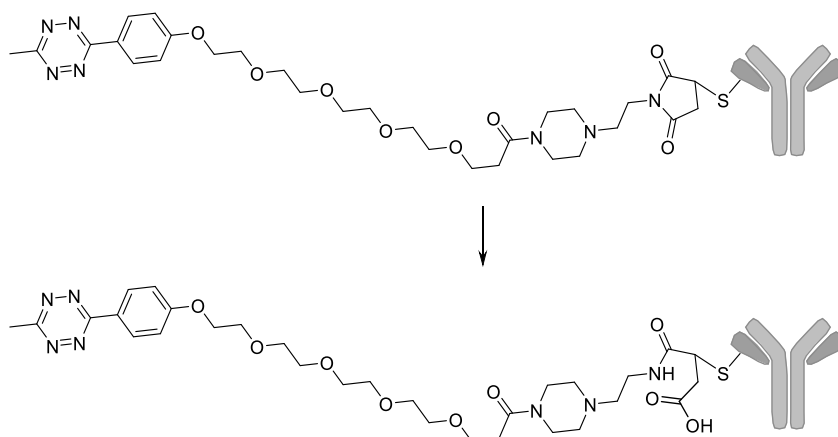
En el primer método, se conjugó un enlazador bifuncional de maleimida-metiltetrazina con la cisteína diseñada por ingeniería de las proteínas de unión a TfR a pH
10 neutro mediante la adición del enlazador a la proteína de unión a TfR a 20 equivalentes molares e incubación a temperatura ambiente durante 1 h. A continuación, se realizó una etapa de desalinización para eliminar el exceso de enlazador. Después, se añadió ARNbc funcionalizado con
15 transcicloocteno (TCO, por sus siglas en inglés) sobre el enlazador de proteínas a 4 equivalentes molares para la conjugación durante la noche a 4 °C.

Etapas 1a: conjugación de proteína de unión a TfR con
20 enlazador de maleimida-metiltetrazina



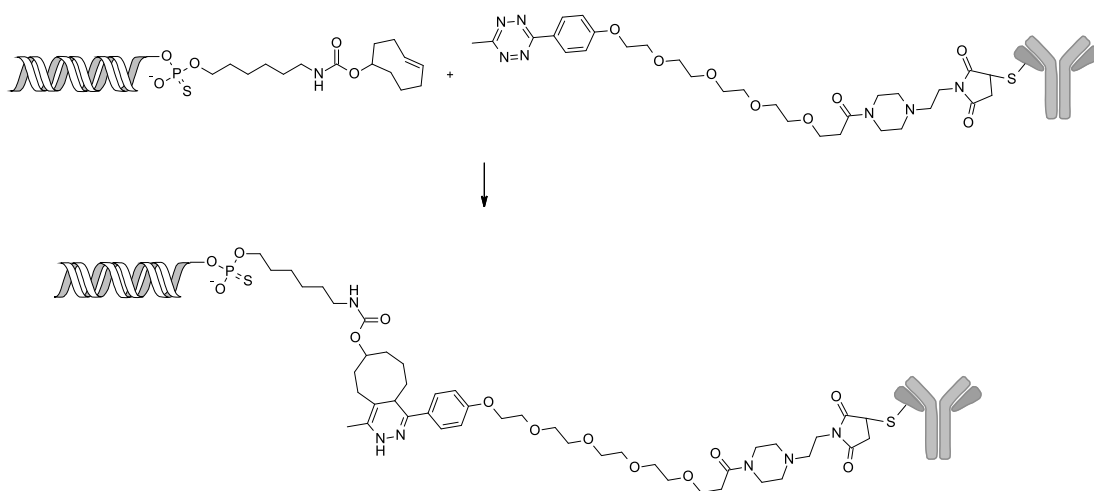
Etapa 1b: conjugación de proteína de unión a TfR con
apertura de anillo del enlazador de maleimida-

5 metiltetrazina



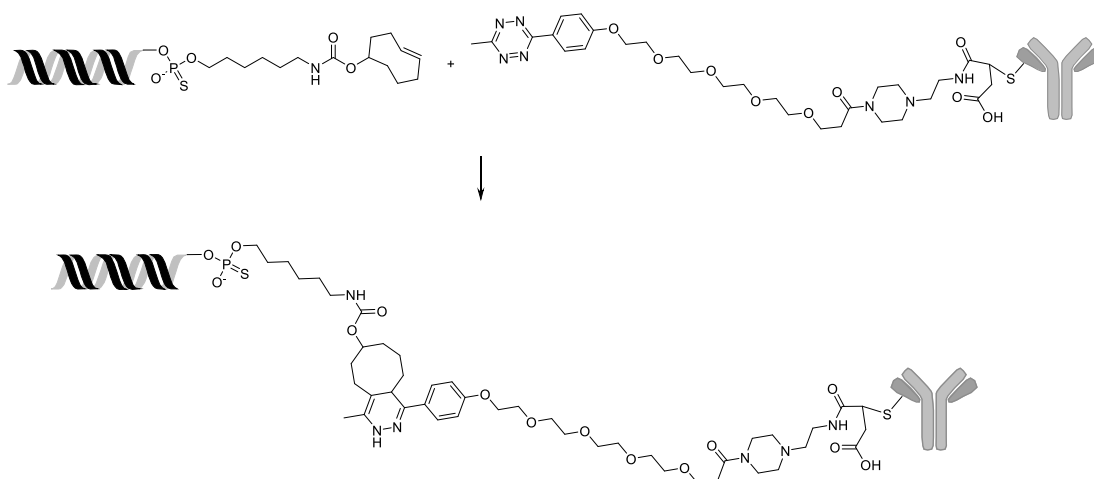
Etapa 2a: conjugación de ARNbc con intermedio proteína-
enlazador

10



Etapa 2b: conjugación de ARNbc con intermedio proteína-enlazador (anillo abierto)

5



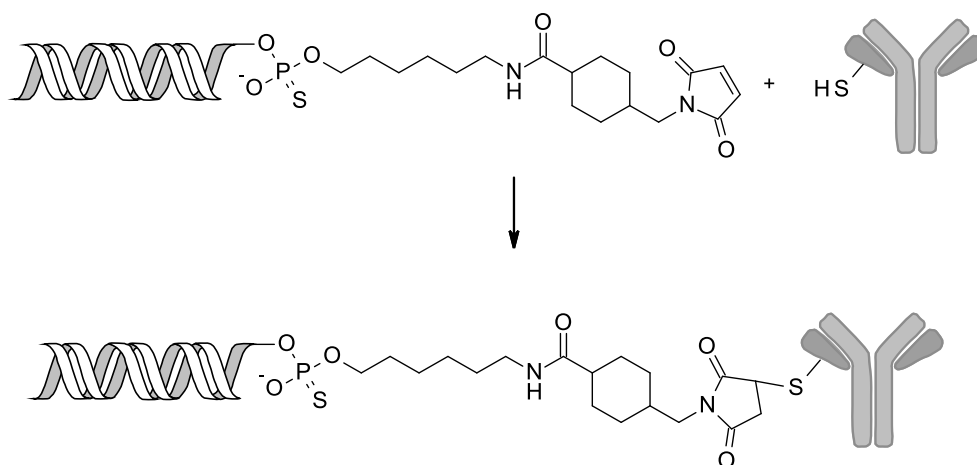
Esquema 2 de conjugación

En el segundo método de conjugación se utilizó el ARNbc funcionalizado con SMCC para conjugar con la cisteína diseñada por ingeniería de las proteínas de unión a TfR. Para este método, la proteína de unión a TfR se preparó similarmente a la anterior para que el tiol

diseñado por ingeniería estuviera disponible para la conjugación al experimentar un proceso de reducción y oxidación de las proteínas de unión a TfR. A esto le sigue la incubación del ARNbc de SMCC con las proteínas de unión a TfR a 4 equivalentes molares para la conjugación durante la noche a 4 °C.

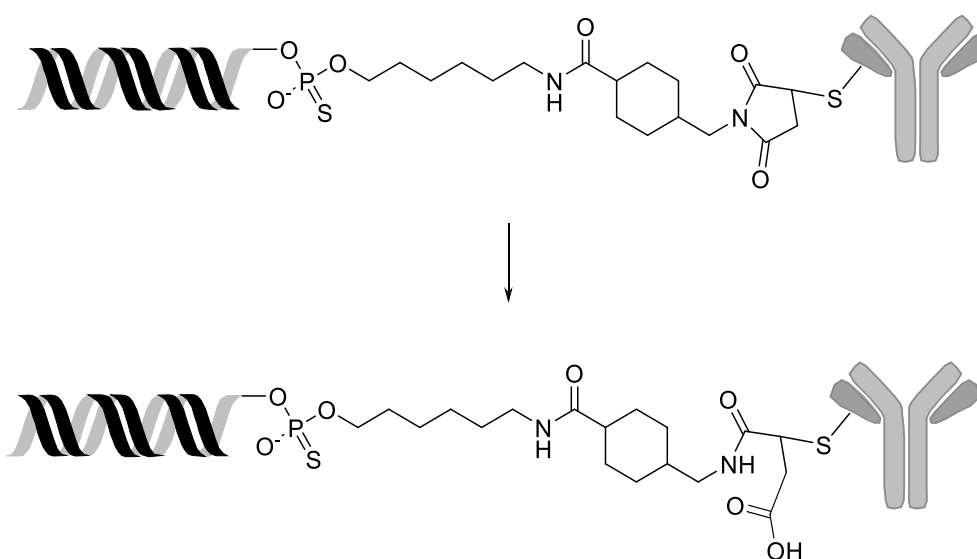
Opcionalmente, después de la conjugación, se puede realizar una etapa de hidrólisis de maleimida para asegurar la carga del enlazador en la etapa terminal y evitar la desconjugación durante la circulación del cuerpo humano mediante la adición retro-Michael. Este proceso de hidrólisis del anillo de succinimida se realizó elevando el pH del conjugado a 9,0 usando 50 mM de arginina (se usó la solución de reserva de 0,7M de arginina, pH 9,0) e incubando la solución a 37 °C durante 20 horas. El estado de hidrólisis de la maleimida se confirmó mediante la caracterización por LCMS de +18Da que se produce por la adición de agua al anillo de succinimida.

Etapa 1a: conjugación de proteína de unión a TfR con enlazador de SMCC



Etapa 1b: conjugación de proteína de unión a TfR con
apertura de anillo de enlazador de SMCC

5



Esquema 3 de conjugación

El tercer método de conjugación utilizó el ARNbc
10 funcionalizado con GDM para conjugar con la cisteína
diseñada por ingeniería de la proteína de unión a TfR
mediante el enlace disulfuro. Para este método, la proteína

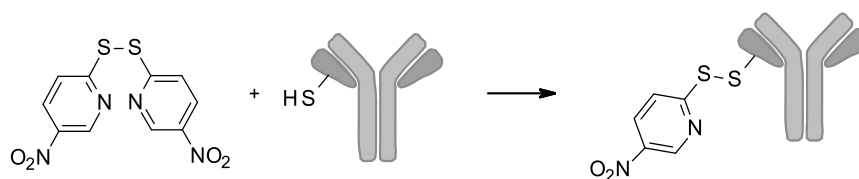
de unión a TfR se preparó similarmente a la anterior para hacer que el tiol diseñado por ingeniería estuviera disponible para la conjugación mediante el proceso de reducción y oxidación de la proteína de unión a TfR.

5 Después, se añadió ditiobis(5-nitropiridina) como 20 equivalentes molares a la proteína para generar el intermediario antes de la conjugación del ARNbc. El exceso de ditiobis(5-nitropiridina) se eliminó por desalinización. En una segunda etapa, se añadió ARNbc funcionalizado con

10 GDM al intermediario de proteína en 4 equivalentes molares. El ditiobis(5-nitropiridina) actúa como un grupo saliente en esta reacción y se reemplaza por el GDM-ARNbc.

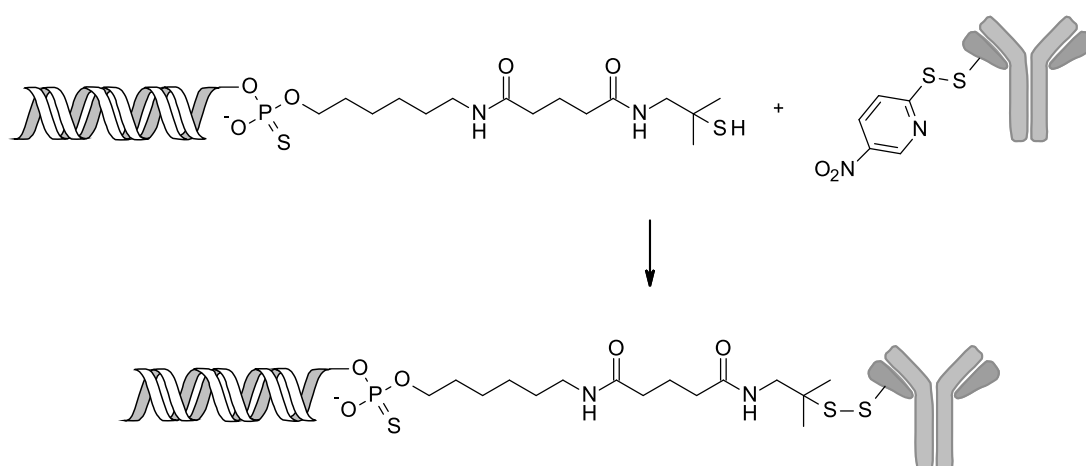
Etapas 1: conjugación de proteína de unión a TfR con

15 ditiobis(5-nitropiridina) para la generación del intermedio



Etapas 2: conjugación de ARNbc con ARNbc funcionalizado

20 con GDM



La conjugación se monitoreó usando cromatografía de intercambio aniónico analítico. Se utilizó una columna de HPLC ProPac™ SAX-10 HPLC, partículas de 10 μm , 4 mm de diámetro, 250 mm de longitud con el siguiente método. Velocidad de flujo de 1 ml/min, tampón A: 20 mM de TRIS pH 7,0, tampón B: 20 mM de TRIS pH 7,0 + 1,5 M de NaCl, a 30 °C.

Tabla 18A: Gradiente de HPLC usado para evaluar la conjugación de ARNbc con la proteína de unión a Tfr TBP10 y TBP11

Tiempo [min]	A [%]	B [%]
0,00	90,0	10,0
16,00	20,0	80,0
17,00	20,0	80,0
17,20	0,0	100,0
18,00	0,0	100,0
18,20	90,0	10,0

Tabla 18B: Gradiente de HPLC usado para evaluar la conjugación de ARNbc con la proteína de unión a TfR TBP14

Tiempo [min]	A [%]	B [%]
0,00	85,0	15,0
8,00	0,0	100,0
9,00	0,0	100,0
9,10	85,0	15,0
10,00	85,0	15,0

5 Se calculó la relación de fármaco/ARNip a anticuerpo/proteína (DAR) en función del % del área pico del cromatograma de intercambio aniónico analítico (aAEX). En la Figura 1A se muestra un ejemplo ilustrativo de un cromatograma del conjugado TBP11-ARNbc antes de la purificación. La Figura 1C muestra un cromatograma de aAEX
10 ilustrativo del perfil DAR para el conjugado TBP15-ARNbc antes de la purificación.

Después de la conjugación del ARNbc a la proteína de unión a TfR, se eliminó el exceso de ARNbc y proteína
15 no conjugada mediante purificación adicional. Se utilizó cromatografía de exclusión por tamaño (SEC por sus siglas en inglés) preparativa o cromatografía de intercambio aniónico preparativa para la purificación del conjugado final. La SEC preparativa se realizó usando Cytiva
20 Superdex® 200 en 1x de PBS pH 7,2 en condiciones

isocráticas. Alternativamente, se usó el intercambio aniónico, p. ej., ThermoFisher POROS™ XQ, con un tampón inicial de 20 mM de TRIS pH 7,0 y se eluyó con un gradiente de volumen de columna de 20 con un tampón que contenía 20 mM de TRIS pH 7,0 y NaCl de 1M. Esto dio como resultado un conjugado de proteína de unión a TfR-ARNbc purificado sin exceso de ARNbc y mínima proteína no conjugada. El perfil de conjugado resultante se analizó mediante intercambio aniónico analítico para la cuantificación final de DAR (ver las Figuras 1B y 1D; y Tabla 19).

En la Figura 1B se muestra un ejemplo de un cromatograma de conjugado TBP14-ARNbc después de la purificación. La Figura 1D muestra un cromatograma de aAEX ilustrativo del perfil DAR para el conjugado de TBP15-ARNbc después de la purificación.

Tabla 19. Relación de ARNip/fármaco a TBP/anticuerpo (DAR)

	DAR promedio	% de DAR0	% de DAR1	% de DAR2	% de DAR3
Conjugado de ARNip de TBP14-MAPT	1,89	1,97 %	29,59 %	45,95 %	22,49 %
Conjugado de ARNip de TBP14-SNCA	1,94	2,21 %	27,42 %	45 %	25,37 %
Conjugado de ARNip de TBP15-SNCA (antes de la purificación)	1,03	3,74 %	89,91 %	6,35 %	N/D
Conjugado de ARNip de TBP15-SNCA (antes de la purificación)	1,0	N/D	100 %	N/D	N/D

Ejemplo 4: caracterización *in vitro* de los conjugados de
ARNbc-proteínas de unión a TfR de ratón

Evaluación de unión, internalización y degradación *in*
5 *vitro* en neuronas corticales de ratón

La señal de fluorescencia correspondiente a los niveles totales y la internalización de las proteínas de unión a TfR o conjugados de proteína de unión a TfR-ARNip (ARC) se midieron realizando un ensayo de imágenes de
10 células vivas de alto contenido en neuronas corticales primarias de ratón. Brevemente, las neuronas corticales primarias de ratón se aislaron de embriones de ratón C57BL6 silvestre en E18. Las células se sembraron en placas de 96 pocillos recubiertas con poli-D-lisina a una densidad de
15 40.000 células/pocillo y se cultivaron en NbActiv1 (BrainBits, LLC) que contenía 1 % de antibiótico/antimicótico (Corning) durante 7 días a 37 °C en una incubadora de cultivo de tejidos en una cámara humidificada con 5 % de CO₂. En el día 7, se extrajo el
20 medio de cada pocillo y se reemplazó con medio de cultivo con 5 ug/ml (33 nM) de: (i) isotipo Ab (un anticuerpo de control de isotipo), (ii) mTBP2 (un anticuerpo heterodimérico con un brazo monovalente de unión a TfR de ratón y un brazo de control de isotipo), (iii) ARNip de
25 isotipo Ab-SNCA (anticuerpo de control de isotipo con ARNbc núm. 8 unido a la región constante de cadena pesada 1) o

(iv) ARNip de mTBP2-SNCA (mTBP2 con ARNbc núm. 8 unido a la región constante de cadena pesada 1), junto con 10 ug/ml (0,2 uM) de fragmento Fab específico del fragmento Fc γ de IgG antihumana (Jackson Immuno núm. 109-007-008) etiquetado con DyLight 650 (Thermo Fisher núm. 62266), DL650 junto con tinte BHQ3 (BioSearch Tech BHQ-3000S-5) o tinte pHAb (Promega núm. G9845) en medios de cultivo con gammaglobulina de cabra 6,7 uM (1 mg/ml) (Jackson Immuno núm. 005-000-002) e incubados durante la noche con células vivas cultivadas en una placa de 96 pocillos a 37 °C.

Al día siguiente, las células se lavaron, se incubaron durante 20 minutos con tinte NucBlue Hoechst (Thermo Fisher núm. R37605), se lavaron nuevamente y después se tomaron imágenes con el generador de imágenes de alto contenido Cytation 5 (Biotek). La señal de DyLight 650 mide los niveles totales de proteína de unión a TfR, la señal DyLight 650 más BHQ3 mide la señal de degradación que aumenta la fluorescencia de DyLight 650 cuando se libera el tinte BHQ3 y se pierde la extinción de FRET, mientras que la señal de tinte del sensor de pH pHAb mide solo la fluorescencia internalizada. Se añadió un exceso de gammaglobulina de cabra para reducir la unión no específica y la captación de anticuerpos en las células. La intensidad de la señal en cada pocillo se dividió por la cantidad de núcleos teñidos con Hoechst para determinar la intensidad de la señal por célula. Los pocillos se analizaron por duplicado y, para cada

pocillo, se analizaron aproximadamente 20.000 células a partir de imágenes tomadas con un objetivo de 4x. La señal de fondo se determinó a partir del control de isotipo de IgG humana y se restó del valor final.

5 Los resultados se muestran en la Figura 2. Los datos de imágenes de alto contenido demuestran la actividad celular (propiedades de unión, internalización y degradación) de la proteína de unión a TfR de ratón y el anticuerpo de control de isotipo ilustrados. El anticuerpo de control de isotipo y los conjugados de anticuerpo de control de isotipo-
10 ARNbc carecían de actividad, mientras que se demostró actividad de unión, internalización y degradación para la proteína de unión a TfR de ratón ilustrada en neuronas corticales primarias de ratón. Además, la conjugación con
15 ARNbc no cambia sustancialmente la actividad de las proteínas de unión a TfR de ratón ilustrativas.

Evaluación de potencia in vitro en neuronas corticales de ratón

20 Se aislaron neuronas corticales primarias de ratón a partir de embriones de ratón C57BL6 silvestre en E18 y se cultivaron como se describió anteriormente. El día 7, se extrajo la mitad del medio de cada pocillo y se realizó una concentración 2x de uno de: (i) col-conj-siSNCA
25 (colesterol conjugado de ARNbc núm. 7); (ii) ARNip de SNCA desnudo (ARNip de SNCA no conjugado); (iii) Se añadió ARNip

de isotipo Ab-SNCA (un anticuerpo de control de isotipo que tiene un ARNbc núm. 7 unido a la región 1 de HC constante) o (iv) ARNip de mTBP2-SNCA (conjugado mTBP2-ARNbc núm. 8, ARNbc unido a la región 1 de HC constante de mTBP2), en medios de cultivo con FBS al 2 % para el tratamiento y se incubó con células durante 7 días adicionales. Al final del tratamiento, se realizó RT-qPCR para cuantificar los niveles de ARNm diana usando el kit TaqMan Fast Advanced Cell-to-CT. Específicamente, las células se lisaron, el ADNc se generó en Mastercycler X50a (Eppendorf) y la qPCR se llevó a cabo en el sistema de PCR en tiempo real QuantStudio 7 Flex (Applied Biosystems). Los niveles de expresión génica de la SNCA se normalizaron con β -actina usando las sondas respectivas (ThermoFisher).

Los resultados se proporcionan en la Figura 3 y la Tabla 20. Los resultados proporcionados en la Tabla 20 demuestran que los conjugados de ARNip-proteína de unión a TfR de ratón ilustrativos (p. ej., conjugado mTfR2-ARNbc núm. 8) se dirigen con éxito a SNCA de ratón y proporcionan una potencia de múltiples órdenes de magnitudes mayores que el ARNip no conjugado (es decir, ARNip desnudo) y el ARNip de isotipo Ab-SNCA, y es equivalente o superior a la potencia del ARNip conjugado con colesterol.

Tabla 20: Potencia *in vitro* de las moléculas indicadas para reducir el ARNm de SNCA de ratón en neuronas corticales de ratón

	ARNip de SNCA desnudo	Conjugado de ARNip de Ab de isotipo-SNCA	Conjugado de ARNip de colesterol-SNCA	Conjugado de ARNip de mTBP2-SNCA
IC50 (nM)	1,751	3,074	0,205	0,083

5

Ejemplo 5: caracterización *in vitro* de los conjugados de ARNbc-proteínas de unión a TfR humano

Evaluación de unión, internalización y degradación *in vitro* en células SHSY5Y

10

Las células SH-SY5Y (ATCC CRL-2266, paso 5-20) se mantuvieron en medios que consistían en 225 ml MEM/EBSS (Hyclone:SH30024.02; Gibco 11095-072), suero bovino fetal inactivado por calor al 10 % (Hyclone SH30071.03), piruvato de sodio 1x (100X, Hyclone:SH30239.01), aminoácidos no esenciales 1x (100X, Hyclone SH30238.01) y bicarbonato de sodio (7,5 %, Hyclone: SH30033.01) y HAM F12 de 225 ml (Corning Cellgro 10-080CV). Las células se sembraron a 120.000/pocillo y se cultivaron durante 4 días en una placa negra de 96 pocillos recubiertas con fibronectina (Falcon núm. 353219) a 37 °C, 90 % de humedad en una incubadora de cultivo de tejidos (Thermo Scientific Forma Series 3 Water Jacketed). El día 4, se extrajo el medio de cada pocillo y

20

se reemplazó con medio de cultivo con 5 ug/ml (33 nM) de:
un anticuerpo de control de isotipo (isotipo Ab), TBP10,
TBP11, o las moléculas anteriores conjugadas con un ARNip
de SNCA (ARNbc núm. 8), junto con 10 ug/ml (0,2 uM) del
5 fragmento Fab específico del fragmento Fc γ de IgG
antihumana (Jackson Immuno núm. 109-007-008) etiquetado con
DyLight 650 (Thermo Fisher núm. 62266), DL650 junto con
tinte BHQ3 (BioSearch Tech BHQ-3000S-5) o tinte pHAb
(Promega núm. G9845) en medio de cultivo con gammaglobulina
10 de cabra 6,7 uM (1 mg/ml) (Jackson Immuno núm. 005-000-002)
e incubado durante la noche con células vivas cultivadas
en una placa de 96 pocillos a 37C.

Al día siguiente, las células se lavaron, se
incubaron durante 20 min con tinte NucBlue Hoechst (Thermo
15 Fisher núm. R37605), se lavaron nuevamente y después se
tomaron imágenes con el generador de imágenes de alto
contenido Cytation 5 (Biotek). La señal de DyLight 650 mide
los niveles totales de proteína de unión a TfR, la señal
DyLight 650 más BHQ3 mide la señal de degradación que aumenta
20 la fluorescencia de DyLight 650 cuando se libera el tinte
BHQ3 y se pierde la extinción de FRET, mientras que la señal
de tinte del sensor de pH pHAb mide solo la fluorescencia
internalizada. Se añadió un exceso de gammaglobulina de cabra
para reducir la unión no específica y la captación de
25 anticuerpos en las células. La intensidad de la señal en cada
pocillo se dividió por la cantidad de núcleos teñidos con

Hoechst para determinar la intensidad de la señal por célula. Los pocillos se analizaron por duplicado y, para cada pocillo, se analizaron aproximadamente 20.000 células a partir de imágenes tomadas con un objetivo de 4x. La señal de fondo se determinó a partir del control de isotipo de IgG humana y se restó del valor final.

Los resultados se muestran en la Figura 4. Los datos de imágenes de alto contenido demuestran la actividad celular (propiedades de unión, internalización y degradación) de las proteínas de unión a TfR humanos ilustradas y el anticuerpo de control de isotipo. El anticuerpo de control de isotipo carecía de actividad sustancial, mientras que se demostró la unión, la internalización y la actividad de degradación para las proteínas de unión a TfR humanos ilustradas en células SH-SY5Y. Además, la conjugación con ARNbc no reduce la actividad de las proteínas de unión a TfR humanos ilustrativas.

Evaluación de la potencia in vitro en células SH-SY5Y

Las células SH-SY5Y (ATCC CRL-2266, paso 5-20) se mantuvieron como se describió anteriormente. El día 4, se eliminó el medio de cada pocillo y se reemplazó con medio de cultivo con uno de: un conjugado de ARNip de anticuerpo de control de isotipo (ARNip de isotipo Ab-SNCA), conjugado de ARNip de TBP10-SNCA o se añadió conjugado de ARNip de TBP11-SNCA en medio de cultivo con

FBS al 2 % para el tratamiento y se incubó con células durante 7 días adicionales. Al final del tratamiento, se realizó RT-qPCR para cuantificar los niveles de ARNm diana usando el kit TaqMan Fast Advanced Cell-to-CT.

5 Específicamente, las células se lisaron, el ADNc se generó en Mastercycler X50a (Eppendorf) y la qPCR se llevó a cabo en el sistema de PCR en tiempo real QuantStudio 7 Flex (Applied Biosystems). Los niveles de expresión génica de la SNCA se normalizaron mediante la β -actina usando las

10 sondas respectivas (ThermoFisher).

Los resultados se proporcionan en la Tabla 21 y en la Figura 5. Los resultados proporcionados en la Tabla 21 demuestran que los conjugados de proteína de unión a TfR-ARNip humano ilustrativos proporcionan una potencia para

15 inactivar el gen SCA humano mientras que el conjugado de anticuerpo de control de isotipo mostró una actividad baja.

Tabla 21. Potencia in vitro para reducir el ARNm de SNCA humana en células SH-SY5Y

	Conjugado de ARNip de isotipo Ab-SNCA	Conjugado de ARNip de TBP10-SNCA	Conjugado de ARNip de TBP11-SNCA
IC50 (nM)	N.D.*	0,64	0,47
*N.D. significa no determinado debido a la falta de actividad que impide una evaluación precisa.			

20

Ejemplo 6: Demostración *in vivo* de la prueba de concepto de la eficacia farmacodinámica de los conjugados de

proteínas de unión a TfR-ARNbc de ratón en el SNC con administración periférica.

Evaluación farmacodinámica in vivo en ratones con dosis

5 IV múltiples

Con el fin de demostrar que los conjugados de proteína de unión a TfR-ARNip de ratón atraviesan la BBB y transportan la carga de ARNip al SNC para reducir la expresión génica de ARNm de SNCA, se llevaron a cabo una serie de estudios de prueba de concepto para evaluar la eficacia farmacodinámica de los constructos con administración periférica en ratones. El control de PBS, el ARNip de isotipo Ab-SNCA o el ARNip de mTBP2-SNCA (conjugado núm. 8 de ARNbc de mTBP2 SNCA) fueron dosificados en ratones FVB de 8 semanas de edad a 10 mg/kg de concentración efectiva de ARNip por vía intravenosa, ya sea i) dosis semanal cuatro veces y se sacrificaron 28 días después de la primera dosis (ver las Figuras 6A y 6B) o ii) dosis única y se sacrificaron después de 7 días, 28 días, 70 días o 120 días (ver las Figuras 6C y 6D). Además, se administró una dosis de 10 mg/kg de anticuerpo anti-CD4 de ratón (GK1.5) entre 2 y 3 días antes del estudio para eliminar las células T CD4 positivas y mitigar así las consecuencias farmacocinéticas no deseadas derivadas de respuestas espurias de anticuerpos antifármaco a los compuestos inyectados. Se anestesió completamente a los

ratones en los puntos temporales designados y después se los sometió a perfusión cardíaca con PBS frío (6 ml/min durante 5 min) hasta que se extrajo completamente la sangre para recoger muestras de cerebro y médula espinal para evaluar los niveles de ARNm diana mediante RT-qPCR y los niveles de proteína diana mediante ELISA en homogeneizados tisulares. Para la RT-qPCR, el ARN se aisló usando el RNeasy Plus Universal Mini Kit (Qiagen 73404). Brevemente se prepararon homogeneizados tisulares de hemencéfalo, médula espinal y DRG con perlas FastPrep-24 Lysing Matrix D para homogeneizar los tejidos con MP Fastprep 24 (MP Biomedical) durante 6 m/s durante 40 segundos a 4 °C, centrifugando después los viales para recoger el sobrenadante. Después, se recogió el ARN tras determinar la cantidad de ARN con la relación A260/280 con un espectrofotómetro, se generó ADNc en el Mastercycler X50a (Eppendorf) y se llevó a cabo la qPCR en el sistema de PCR en tiempo real QuantStudio 7 Flex (Applied Biosystems). Los niveles de expresión génica de la SNCA se normalizaron mediante la β -actina usando las sondas respectivas (ThermoFisher).

Los resultados se muestran en las Figuras 6A-6C. Las dosis múltiples de administración IV de ARNip de mTBP2 SNCA en ratones dieron como resultado una reducción sólida del 91 % del ARNm de la SNCA y una reducción del 41 % de la proteína de la SNCA en el cerebro en comparación con los controles dosificados en PBS 28 días después de la dosis

inicial (Figura 6A). Es importante destacar que el ARNip de isotipo Ab-SNCA no provocó una reducción significativa del ARNm de SNCA, lo que demuestra que se requería un transporte mediado por TfR activo para administrar la carga de ARNip al SNC, lo que demuestra el cruce de la BBB y la administración al cerebro. Además, la evaluación de la médula espinal 28 días después de la dosis inicial también demostró reducciones sólidas en las regiones cervical, torácica y lumbar con reducciones del 79 %, 79 % y 73 % del ARNm de SNCA respectivamente con ARNip de mTBP2-SNCA en comparación con los controles dosificados con PBS (Figura 6B). Además, hubo una reducción significativa del 61 % del ARNm de SNCA en los ganglios de la raíz dorsal lumbar (DRG, por sus siglas en inglés) (Figura 6C). Curiosamente, hubo niveles bajos pero significativos de reducción del ARNm de SNCA en la médula espinal cervical y torácica, y en DRG lumbar con un anticuerpo ARNip de isocontrol Ab-SNCA, lo que sugiere que puede haber niveles limitados de la administración de médula espinal y de ARNip de DRG sin suministro mediado por TfR.

Ejemplo 7: Demostración *in vivo* de la prueba de concepto de la evolución temporal farmacodinámica de los conjugados de proteínas de unión a TfR-ARNbc de ratón en el SNC con administración periférica

Evaluación farmacodinámica *in vivo* de la evolución temporal en ratones con una dosis IV única

La alta eficacia de ARNip de mTBP2-SNCA en el cerebro y la médula espinal con dosis IV múltiples sugirió que probablemente habrá una eficacia significativa con una dosis única. Por lo tanto, se realizó un estudio de prueba
5 de concepto de seguimiento para determinar la eficacia de una dosis IV única y para determinar la evolución temporal de la eficacia farmacodinámica para los niveles proteína y ARNm de SNCA para informar el diseño del estudio posterior en primates no humanos. Para cada punto temporal, se
10 sacrificaron 5 ratones para recolectar los tejidos para analizar como se describió anteriormente.

Como se muestra en la Figura 7A, la administración IV única de ARNip de mTBP2-SNCA en ratones condujo a una reducción sólida de SNCA en el cerebro en
15 comparación con el control dosificado con PBS, comenzando a los 7 días posteriores a la dosificación (60 % de reducción de ARNm, 22 % de reducción de proteínas) con una reducción máxima a los 28 días (73 % de reducción de ARNm, 41 % de reducción de proteínas), seguida de una reducción
20 persistente a los 70 días (34 % de reducción de ARNm, 45 % de reducción de proteínas) que revirtió hacia el grupo de referencia de PBS a los 120 días (6 % de reducción de ARNm y 19 % de reducción de proteína).

Además, como se muestra en la Figura 7B, la única
25 administración IV de SNCA de mTBP2 también dio lugar a una sólida reducción de SNCA en la médula espinal en

comparación con el grupo control al que se le administró PBS, a partir de los 7 días posteriores a la administración para el ARNm únicamente (48 % de reducción de ARNm, 3 % de reducción de proteína) con una reducción tanto de ARNm como de proteína a los 28 días (48 % de reducción de ARNm, 27 % de reducción de proteína), seguido de una constante reducción a los 70 días (32 % de reducción de ARNm, 48 % de reducción de proteína) que revirtió hacia el grupo de referencia de PBS a los 120 días (23 % de reducción de ARNm y 14 % de reducción de proteína).

Ejemplo 8: Caracterización *in vivo* de los conjugados de proteínas de unión a TfR humanos-ARNbc

8A. Evaluación farmacodinámica *in vivo* en primates no humanos (NHP, por sus siglas en inglés) 29 días después de una dosis única de conjugados de ARNip de SNCA-proteínas de unión a TfR humano.

Después de una sólida demostración de prueba de concepto de la introducción de ARNip periférico en el SNC a través de la BBB en ratones, se evaluaron las propiedades farmacodinámicas de conjugados de ARNip de SNCA-proteína de unión a TfR humano en NHP de acuerdo con lo descrito a continuación. Los monos *Cynomolgus* que pesaban 2-3 kg recibieron dosis intravenosas en la vena safena del muslo con i) PBS (n=8), ii) ARNip de TBP10-SNCA (conjugado TB10-ARNbc núm. 8) (n=6) a una concentración efectiva de ARNip de

8,8 mg/kg, o iii) ARNip de TBP11-SNCA (conjugado TBP11-ARNbc
núm. 8) (n=6) a una concentración efectiva de ARNip de
2,6 mg/kg y sacrificados 29 días después de la primera dosis.
Los animales profundamente anestesiados se sometieron a
5 perfusión cardíaca, después se recolectaron tejidos
cerebrales, medulares y periféricos. El cerebro se seccionó
coronalmente, se recolectaron perforaciones de 3 mm de las
subregiones indicadas y se congelaron, así como también se
recolectaron tejidos de la médula espinal, el hígado y los
10 músculos para evaluar los niveles de ARNm diana por RT-qPCR
en homogeneizados de tejido. El ARN total de los tejidos NHP
se aisló usando el kit RNAdvance Tissue (Beckman Coulter,
Indianapolis, IN) manualmente o en un manipulador de líquidos
Biomek i7 (Beckman Coulter), siguiendo el procedimiento del
15 fabricante con algunas modificaciones. En resumen, las
secciones de tejido congelado se mezclaron con una bola de
acero inoxidable de 5 mm, tampón de lisis y proteinasa K, se
homogeneizaron durante 5 ciclos de 30 segundos a 1200 rpm,
con un intervalo de 20 segundos entre ciclos, en un 2010
20 GenoGrinder (SPEX SamplePrep, Metuchen, NJ). Los tejidos de
algunas regiones se rasuraron en hielo seco, antes de la
homogeneización. Los homogeneizados se incubaron a 37 °C
durante 1 hora, después se extrajeron con un volumen igual
de fenol-cloroformo. El ARN del sobrenadante se purificó con
25 el kit de tejido RNAdvance, donde se incluyó una digestión
de 30 min con DNasa. La concentración y la pureza (A260/A280)

del eluido de ARN se determinaron por espectrofotometría. El ARN se normalizó a 15 ng/10 ul de PCR, se digirió nuevamente con ezDNasa (ds-ADN específico) antes de la transcripción inversa usando el kit SSIV VILO (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). La expresión de las diana genéticas respectivos en el ADNc se determinó mediante ensayos TaqMan qPCR en la plataforma QuantStudio 7 Pro (Thermo Fisher Scientific). La expresión génica de la SNCA se normalizó por los niveles de expresión génica de la SNCA se normalizaron por la β -actina usando las sondas respectivas (ThermoFisher). Los tejidos analizados y sus acrónimos son: hígado; músculo gastrocnemio; AN, núcleo arcuato; Med Em, eminencia media; LSC, médula espinal lumbar; médula; protuberancia; CB, cerebelo; mesencéfalo; SN, sustancia negra; caudado; PUT, putamen; HT, hipotálamo; H, hipocampo, PFC, materia gris de la corteza prefrontal; PFC, materia blanca de la corteza prefrontal.

La administración IV periférica de ARNip de TBP10-SNCA a 8,8 mg/kg en NHP condujo a una reducción significativa del ARNm de SNCA en regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en comparación con el grupo de tratamiento con PBS a los 29 días después de la dosificación. Como se muestra en la Figura 8A, se demostraron reducciones significativas del ARNm de SNCA en el hígado (48 %), núcleo arcuato (58 %), médula espinal lumbar (82 %), médula (71 %), protuberancia (77 %), mesencéfalo (56 %), sustancia negra (76 %), caudado (81 %),

putamen (76 %), hipotálamo (64 %), hipocampo (83 %),
materia gris de la corteza prefrontal (74 %), materia
blanca de la corteza prefrontal (76 %). Otras regiones y
tejidos del cerebro evaluados no mostraron reducción
5 significativa del ARNm de SNCA como se muestra (Figura 8A).

La administración IV periférica de ARNip de
TBP11-SNCA a una dosis más baja de 2,6 mg/kg en NHP también
condujo a una reducción significativa del ARNm de SNCA en
regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en
10 comparación con el grupo de tratamiento con PBS a los 29
días después de la dosificación. Como se muestra en la
Figura 8B, se demostraron reducciones significativas del
ARNm de SNCA en la médula espinal lumbar (62 %), la médula
(63 %), la protuberancia (48 %), la sustancia negra (66 %),
15 el caudado (59 %), el hipocampo (72 %) y la materia gris
de la corteza prefrontal (39 %). Otras regiones y tejidos
cerebrales evaluados no demostraron una reducción
significativa del ARNm de SNCA como se muestra (Figura 8B).

Para determinar los niveles esperados de
20 reducción de ARNm de SNCA cerebral en dosis equivalentes
de NHP, se administró una dosis única IV a una cohorte de
ratones con una concentración equivalente de 8,8 mg/kg y
2,6 mg/kg de ARNip de mTBP2-SNCA y se procesaron como se
describió anteriormente para evaluar la traducibilidad en
25 la eficacia de la KD de ARNm mediante RT-qPCR.

Los ratones que recibieron una dosis intravenosa equivalente a 8,8 mg/kg de concentración efectiva de ARNip demostraron una reducción del 69 % en el ARNm de SNCA en el cerebro, mientras que la dosis de 2,6 mg/kg de concentración efectiva de ARNip demostró una reducción del 53 % del ARNm de SNCA en el cerebro, lo que demuestra que se traduce una eficacia similar de roedores a NHP (Figura 8C).

8B. Evaluación farmacodinámica in vivo en NHP 85 días después de una dosis única o tres dosis mensuales de conjugados de ARNip de SNCA-proteínas de unión a TfR humano.

Se realizó un estudio farmacodinámico para determinar la eficacia de los conjugados de proteína de unión a TfR humano-ARNip de SNCA 3 meses después de una dosis única o tres dosis mensuales. Los monos *Cynomolgus* que pesaban 2-3 kg recibieron una dosis intravenosa única en la vena safena del muslo con el ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (n=5) a 10 mg/kg, o tres dosis intravenosas mensuales en la vena safena del muslo con i) PBS (n=5), o ii) ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (n=5) a 10 mg/kg. A todos los grupos se les administró 30 mg/kg de anticuerpo anti-CD4 inmediatamente después de la dosis del artículo de prueba para mitigar la respuesta de anticuerpos contra el fármaco. 85 días después de la dosis única o después de la primera dosis en el régimen

de dosificación de tres meses, los animales profundamente anestesiados se sometieron a perfusión cardíaca, después, se recolectaron tejidos cerebrales, medulares y periféricos.

El cerebro se seccionó coronalmente, se
5 recolectaron perforaciones de 4 mm de las subregiones indicadas y se congelaron, así como también se recolectaron tejidos de la médula espinal, el hígado y los músculos para evaluar los niveles de ARNm y proteína diana por RT-qPCR y ELISA respectivamente en homogeneizados de tejido. Para
10 determinar los niveles de ARNm, el ARN total de los tejidos NHP se aisló usando el kit RNAdvance Tissue (Beckman Coulter, Indianapolis, IN) manualmente o en un manipulador de líquidos Biomek i7 (Beckman Coulter), siguiendo el procedimiento del fabricante con algunas modificaciones. En resumen, las
15 secciones de tejido congelado se mezclaron con una bola de acero inoxidable de 5 mm, tampón de lisis y proteinasa K, se homogeneizaron durante 5 ciclos de 30 segundos a 1200 rpm, con un intervalo de 20 segundos entre ciclos, en un GenoGrinder 2010 (SPEX SamplePrep, Metuchen, NJ). Los tejidos
20 de algunas regiones se rasuraron en hielo seco, antes de la homogeneización. Los homogeneizados se incubaron a 37 °C durante 1 hora, después se extrajeron con un volumen igual de fenol-cloroformo. El ARN del sobrenadante se purificó con el kit de tejido RNAdvance, donde se incluyó una digestión
25 de 30 minutos con DNasa. La concentración y la pureza (A260/A280) del eluido de ARN se determinaron por

espectrofotometría. El ARN se normalizó a 15 ng/10 ul de PCR, se digirió nuevamente con ezDNasa (ds-ADN específico) antes de la transcripción inversa usando el kit SSIV VILO (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). La expresión de las diana genéticas respectivos en el ADNc se determinó mediante ensayos TaqMan qPCR en la plataforma QuantStudio 7 Pro (Thermo Fisher Scientific). Los niveles de expresión génica de la SNCA se normalizaron mediante la β -actina usando las sondas respectivas (ThermoFisher) para las regiones del SNC y GAPDH para los músculos gastrocnemios (ThermoFisher).

Para determinar los niveles de proteína α -sinucleína, se mezclaron perforaciones congeladas de 4 mm de biopsias de tejido neural con tampón RIPA frío (Pierce núm. 89901, Thermo Scientific, Waltham, MA), que contenía los inhibidores de proteasa y fosfatasa (coctel inhibidor de proteasa y fosfatasa Halt™, Thermo Scientific), en una relación de 20 ml de tampón por 1 gramo de tejido. La mezcla de tejido-RIPA se homogeneizó usando una perla de acero inoxidable de 5 mm en un 2010 GenoGrinder (Spx SamplePrep, Metuchen, NJ). Después, el homogeneizado se centrifugó en una centrifugadora refrigerada (Eppendorf, Hamburg, Alemania), y el sobrenadante se transfirió, se convirtió en múltiples alícuotas de un solo uso y se almacenó a -80 °C para su posterior análisis.

La concentración de proteínas en el lisado de proteínas se determinó usando el kit de ensayo proteínico

BCA Pierce™ BCA (Thermo Scientific), siguiendo las instrucciones del fabricante. En particular, los estándares de albúmina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés) diluidos en serie se analizaron por duplicado; mientras que
5 cada muestra de lisado de proteínas se diluyó 10 veces o 20 veces en agua, y después se analizó en singulete, respectivamente. A continuación, se obtuvo la concentración proteica en la muestra sin diluir, después promediando la derivada de la diluida 10 veces y la de la diluida 20 veces.

10 Se midió el nivel de proteína sinucleína α en el lisado de proteínas usando un ELISA de tipo *sandwich* desarrollado internamente. Brevemente, se recubrió la microplaca transparente UV de fondo plano de 96 pocillos de media área (Corning, Corning, NY) con el anticuerpo de
15 captura (α -sinucleína: anticuerpo antisinucleína, Syn42, Eli Lilly, Indianapolis, IN) a 4 °C durante la noche con agitación. Los pocillos se bloquearon con albúmina de suero bovino (BSA) al 2 % (Thermo Scientific) en solución salina tamponada con fosfato Tween20™ (PBST, por sus siglas en
20 inglés) (Thermo Scientific) a temperatura ambiente (RT) durante 60 min. Después del lavado, a los pocillos de cada placa de ELISA para α -Sin se les añadió lisado de proteínas o la proteína alfa-sinucleína humana recombinante (α -sinucleína: rPeptide, Watkinsville, GA) que se había
25 diluido en la PBST que contenía 2 % de BSA. Las placas se incubaron a 4 °C durante la noche con agitación.

Se lavaron las placas para un ELISA de sin-a, después se incubaron con el anticuerpo de detección (pAb de conejo antisinucleína α . US Biological, Salem, MA) en PBST que contenía 2 % de BSA a temperatura ambiente durante 3
5 horas. Las placas se lavaron de nuevo, después se incubaron con el anticuerpo unido a HRP anticonejo en PBST que contenía 2 % de BSA a temperatura ambiente durante 1 hora.

Para minimizar la variación, todas las biopsias de la misma región cerebral, así como un conjunto de
10 estándares de proteína de α -sinucleína humana recombinante diluidos en serie, se analizaron en la misma placa de ELISA. Todas las muestras, incluidos los estándares de proteínas recombinantes, se analizaron por duplicado. Se usó la media aritmética de la OD450 del duplicado, después
15 de restar la placa en blanco, para el cálculo adicional. La curva estándar en cada placa de ELISA se creó ajustando la OD450 (eje Y) y la concentración de proteína (eje X) en cada uno de los estándares de proteína diluidos en serie con el modelo de regresión no lineal logística 4P, usando
20 el software JMP (SAS Institute, Cary, NY). La concentración de la proteína respectiva en cada muestra diluida se calculó inversamente a partir de la OD450 respectiva, en función de la curva estándar. El nivel de proteína sinucleína α en cada muestra se normalizó al nivel de
25 proteína total y la expresión de proteína sinucleína α restante en el grupo tratado se calculó como el porcentaje

de expresión de proteína sinucleína α restante en el grupo de tratamiento respecto a la expresión promedio de esa proteína en el grupo de control de aCSF o PBS.

Los tejidos analizados para los niveles de ARNm o proteína y sus acrónimos son: músculo gastrocnemio; LSC, médula espinal lumbar; SN, sustancia negra; caudado; PUT, putamen; H, hipocampo, PFC, materia gris de la corteza prefrontal y LDRG, DRG lumbar.

Tres meses de administración IV periférica de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado a una dosis de 10 mg/kg en NHP condujo a una reducción significativa del ARNm de SNCA en regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en comparación con el grupo de tratamiento con PBS a los 85 días después de la primera dosis. Como se muestra en la Figura 9A, se demostraron reducciones significativas del ARNm de SNCA en la médula espinal lumbar (72 %), la sustancia negra (76 %), el caudado (81 %), el putamen (66 %) el hipocampo (76 %) y la materia gris de la corteza prefrontal (73 %). La Figura 9B demuestra una reducción significativa de la proteína α -sinucleína en regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en comparación con el grupo de control tratado con PBS a los 85 días después de la primera dosis. Como se muestra en la Figura 9B, una reducción significativa de proteína α -sinucleína se observó en la médula espinal lumbar (50 %),

la sustancia negra (45 %), el caudado (43 %), el putamen (54 %), el hipocampo (48 %) y la corteza prefrontal (54 %).

La administración IV periférica única de ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado a dosis
5 de 10 mg/kg en NHP condujo a una reducción significativa del ARNm de SNCA en regiones clave del cerebro en comparación con el grupo de tratamiento con PBS a los 85 días después de la dosificación. Como se muestra en la Figura 9C, se demostraron reducciones significativas del ARNm de SNCA en
10 el caudado lumbar (54 %) y el putamen (45 %). Otras regiones y tejidos cerebrales evaluados no demostraron una reducción significativa del ARNm de SNCA como se muestra (Figura 9C). La Figura 9D demuestra una reducción significativa de la proteína α -sinucleína en regiones clave del cerebro y la
15 médula espinal lumbar en comparación con el grupo de control tratado con PBS a los 85 días después de la primera dosis. Como se muestra en la Figura 9D, una reducción significativa de la proteína α -sinucleína se observó en la médula espinal lumbar (52 %), el caudado (36 %), el putamen (39 %), el
20 hipocampo (43 %) y la corteza prefrontal (33 %). Otras regiones y tejidos cerebrales evaluados no demostraron una reducción significativa en la proteína α -sinucleína como se muestra (Figura 9D).

En la Figura 9E se muestra la reducción del ARNm
25 SNCA en el músculo gastrocnemio después de una dosis única o tres dosis mensuales.

8C. Evaluación farmacodinámica in vivo en NHP después de tres dosis mensuales de conjugados de ARNip de MAPT-proteínas de unión a TfR humano.

5 Se realizó un estudio farmacodinámico para determinar la eficacia de los conjugados de proteína de unión a TfR humano-ARNip de MAPT después de tres dosis mensuales. Un grupo de monos Cynomolgus que pesaban 2-3 kg recibieron dosis intravenosas mensualmente en la vena safena del muslo con i) PBS (n=5), o ii) ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 38 10 en la Tabla 11b) (n=5) a una concentración efectiva de ARNip a 10 mg/kg. Un grupo separado de monos Cynomolgus que pesaban 2-3 kg recibieron dosis intravenosas mensualmente en la vena safena del muslo con i) PBS (n=5), ii) ARNip de TBP14-MAPT 15 (ARNbc núm. 39 en la Tabla 11b) (n=5) a una concentración efectiva de ARNip a 10 mg/kg, o iii) ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 40 en la Tabla 11b) (n=5) a una concentración efectiva de ARNip a 10 mg/kg. A todos los grupos se les administró 30 mg/kg de anticuerpo anti-CD4 inmediatamente 20 después de la dosis del artículo de prueba para mitigar la respuesta de anticuerpos contra el fármaco. Unos 85 días después de la primera dosis, los animales anestesiados profundamente se sometieron a perfusión cardíaca, después se recolectaron tejidos cerebrales, medulares y periféricos.

25 El cerebro se seccionó coronalmente, se recolectaron perforaciones de 4 mm de las subregiones

indicadas y se congelaron, así como también se recolectaron tejidos de la médula espinal, el hígado y los músculos para evaluar los niveles de ARNm y proteína diana por RT-qPCR y ELISA respectivamente en homogeneizados de tejido. Para 5 determinar los niveles de ARNm, el ARN total de los tejidos NHP se aisló usando el kit RNAdvance Tissue (Beckman Coulter, Indianapolis, IN) manualmente o en un manipulador de líquidos Biomek i7 (Beckman Coulter), siguiendo el procedimiento del fabricante con algunas modificaciones. En resumen, las 10 secciones de tejido congelado se mezclaron con una bola de acero inoxidable de 5 mm, tampón de lisis y proteinasa K, se homogeneizaron durante 5 ciclos de 30 segundos a 1200 rpm, con un intervalo de 20 segundos entre ciclos, en un 2010 GenoGrinder (SPEX SamplePrep, Metuchen, NJ). Los tejidos de 15 algunas regiones se rasuraron en hielo seco, antes de la homogeneización. Los homogeneizados se incubaron a 37 °C durante 1 hora, después se extrajeron con un volumen igual de fenol-cloroformo. El ARN del sobrenadante se purificó con el kit de tejido RNAdvance, donde se incluyó una digestión 20 de 30 min con DNasa. La concentración y la pureza (A260/A280) del eluido de ARN se determinaron por espectrofotometría. El ARN se normalizó a 15 ng/10 ul de PCR, se digirió nuevamente con ezDNasa (ds-ADN específico) antes de la transcripción inversa usando el kit SSIV VILO (Thermo Fisher Scientific, 25 Waltham, MA). La expresión de las diana genéticas respectivos en el ADNc se determinó mediante ensayos TaqMan qPCR en la

plataforma QuantStudio 7 Pro (Thermo Fisher Scientific). Los niveles de expresión génica de la MAPT se normalizaron mediante la β -actina usando las sondas respectivas (ThermoFisher) para las regiones del SNC y GAPDH para los
5 músculos gastrocnemios (ThermoFisher).

Para determinar los niveles de proteína Tau, se mezclaron perforaciones congeladas de 4 mm de biopsias de tejido neural con tampón RIPA frío (Pierce núm. 89901, Thermo Scientific, Waltham, MA), que contenía los inhibidores de
10 proteasa y fosfatasa (Halt™ Protease and Phosphatase Inhibitor Cocktail, Thermo Scientific), en una relación de 20 ml de tampón por 1 g de tejido. La mezcla de tejido-RIPA se homogeneizó usando una perla de acero inoxidable de 5 mm en un 2010 GenoGrinder (Spex SamplePrep, Metuchen, NJ).
15 Después, el homogeneizado se centrifugó en una centrifugadora refrigerada (Eppendorf, Hamburg, Alemania), y el sobrenadante se transfirió, se convirtió en múltiples alícuotas de un solo uso y se almacenó a -80 °C para su posterior análisis.

La concentración de proteínas en el lisado de
20 proteínas se determinó usando el kit de ensayo proteínico BCA Pierce™ BCA (Thermo Scientific), siguiendo las instrucciones del fabricante. En particular, los estándares de albúmina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés) diluidos en serie se analizaron por duplicado; mientras que
25 cada muestra de lisado de proteínas se diluyó 10 veces o 20 veces en agua, y después se analizó en singulete,

respectivamente. A continuación, se obtuvo la concentración proteica en la muestra sin diluir, después promediando la derivada de la diluida 10 veces y la de la diluida 20 veces.

El nivel de proteína Tau en el lisado de proteínas se midió usando un ELISA tipo sándwich desarrollado internamente. Brevemente, se recubrió la microplaca transparente UV de fondo plano de 96 pocillos de media área (Corning, Corning, NY) con el anticuerpo de captura (Tau: anticuerpo antitau humano, Tau5, Eli Lilly, Indianapolis, IN) a 4 °C durante la noche con agitación. Los pocillos se bloquearon con albúmina de suero bovino (BSA) al 2 % (Thermo Scientific) en solución salina tamponada con fosfato Tween20™ (PBST) (Thermo Scientific) a temperatura ambiente (RT) durante 60 min. Después del lavado, a los pocillos de cada placa se les añadió el lisado de proteínas o la proteína Tau humana recombinante (Tau: Tau441, Eli Lilly) que ha sido diluida en el PBST que contenía 2 % de BSA y el anticuerpo de detección (Tau: anticuerpo anti-Tau humano, Biotinylated DA9, Eli Lilly). Las placas se incubaron a 4 °C durante la noche con agitación.

Al día siguiente, las placas se lavaron, después se incubaron con peroxidasa de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés) conjugada con estreptavidina de alta sensibilidad Pierce™ (Thermo Scientific) en PBST con 2 % de BSA a temperatura ambiente durante 30 min. La reacción enzimática de HRP se visualizó con la adición de la solución

de sustrato TMB (T0440, Sigma Aldrich, St. Louis, MO), y se
detuvo con la adición de ácido sulfúrico (ELISA Stop
solution, Thermo Scientific). La densidad óptica (OD, por
sus siglas en inglés) de las muestras se midió a 450 nm
5 (OD450) en un lector de placas Envision (PerkinElmer,
Waltham, MA).

Para minimizar la variación, todas las biopsias
de la misma región cerebral, así como un conjunto de
estándares de proteína Tau humana recombinante diluidos en
10 serie, se analizaron en la misma placa ELISA. Todas las
muestras, incluidos los estándares de proteínas
recombinantes, se analizaron por duplicado. Se usó la media
aritmética de la OD450 del duplicado, después de restar la
placa en blanco, para el cálculo adicional. La curva
15 estándar en cada placa de ELISA se creó ajustando la OD450
(eje Y) y la concentración de proteína (eje X) en cada uno
de los estándares de proteína diluidos en serie con el modelo
de regresión no lineal logística 4P, usando el software JMP
(SAS Institute, Cary, NY). La concentración de la proteína
20 respectiva en cada muestra diluida se calculó inversamente
a partir de la OD450 respectiva, en función de la curva
estándar. El nivel de proteína Tau en cada muestra se
normalizó al nivel de proteína total, y la expresión de
proteína Tau restante en el grupo tratado se calculó como
25 el porcentaje de expresión de proteína Tau restante en el

grupo de tratamiento, en relación con la expresión promedio de esa proteína en el grupo de control de aCSF o PBS.

Los tejidos analizados para los niveles de ARNm o proteína y sus acrónimos son: LSC, médula espinal lumbar; SN, sustancia negra; caudado; PUT, putamen; H, hipocampo y PFC, materia gris de la corteza prefrontal.

Tres meses de administración IV periférica de ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 38 en la Tabla 11b) a 10 mg/kg en NHP condujo a una reducción significativa del ARNm de MAPT y proteínas en regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en comparación con el grupo de tratamiento con PBS a los 85 días después de la primera dosis. Como se muestra en la Figura 10A, se demostraron reducciones significativas de ARNm de MAPT en la médula espinal lumbar (24 %), el caudado (31 %), el putamen (38 %), el hipocampo (41 %), la materia gris de la corteza prefrontal (40 %). Otras regiones y tejidos del cerebro evaluados no mostraron reducción significativa del ARNm de MAPT como se muestra (Figura 10A). La Figura 10B muestra reducción significativa de la proteína tau en regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en comparación con el grupo de control tratado con PBS 85 días después de la primera dosis. Como se muestra en la Figura 10B, una reducción significativa de la proteína Tau se observó en la médula espinal lumbar (29 %), el caudado (26 %), el putamen (28 %), el hipocampo (27 %) y la corteza prefrontal (34 %). Otras regiones y tejidos cerebrales

evaluados no demostraron una reducción significativa en la proteína Tau como se muestra (Figura 10B).

Tres meses de administración IV periférica de ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 39 en la Tabla 11b) conjugado a 10 mg/kg en NHP condujo a una reducción significativa del ARNm de MAPT en regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en comparación con el grupo de tratamiento con PBS a los 85 días después de la primera dosis. Como se muestra en la Figura 11A, se demostraron reducciones significativas de ARNm de MAPT en la médula espinal lumbar (41 %), la sustancia negra (41 %), el caudado (67 %), el putamen (67 %), el hipocampo (57 %), la materia gris de la corteza prefrontal (65 %). La Figura 11B muestra reducción significativa de la proteína tau en regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en comparación con el grupo de control tratado con PBS 85 días después de la primera dosis. Como se muestra en la Figura 11B, una reducción significativa de la proteína Tau se observó en la médula espinal lumbar (38 %), la sustancia negra (56 %), el caudado (63 %), el putamen (77 %), el hipocampo (59 %) y la corteza prefrontal (76 %).

Tres meses de administración IV periférica de ARNip de TBP14-MAPT (ARNbc núm. 40 en la Tabla 11b) conjugado a una dosis de 10 mg/kg en NHP condujo a una reducción significativa del ARNm de MAPT en regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en comparación con el grupo de tratamiento con PBS a los 85 días después de

la primera dosis. Como se muestra en la Figura 12A, se demostraron reducciones significativas del ARNm de MAPT en la médula espinal lumbar (37 %), la sustancia negra (35 %), el caudado (61 %), el putamen (54 %), el hipocampo (36 %) y la materia gris de la corteza prefrontal (61 %). La Figura 12B muestra reducción significativa de la proteína tau en regiones clave del cerebro y la médula espinal lumbar en comparación con el grupo de control tratado con PBS 85 días después de la primera dosis. Como se muestra en la Figura 12B, una reducción significativa de la proteína Tau se observó en la médula espinal lumbar (31 %), la sustancia negra (47 %), el caudado (57 %), el putamen (72 %), el hipocampo (45 %) y la corteza prefrontal (70 %).

8D. Evaluación farmacodinámica in vivo en NHP 1 mes después de una dosis única de anticuerpos penetrantes de la BBB dirigidos a los conjugados de proteína de unión a Tfr humano de SNCA-ARNip de SNCA (DAR1)

Después de la demostración de la eficacia central con la administración de ARNip periférico en mono *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*) usando conjugados de proteínas de unión a Tfr humanos promedio DAR2-ARNip de SNCA, se realizó una eficacia de 1 mes con conjugados de proteínas de unión a Tfr humanos promedio DAR1-ARNip de SNCA para determinar la diferencia en la eficacia. Se evaluaron las propiedades farmacodinámicas de los conjugados de proteína de unión a

TfR humana-ARNip en NHP de acuerdo con lo siguiente. Los monos *Cynomolgus* que pesaban 2-3 kg recibieron una dosis intravenosa en la vena safena del muslo con i) PBS (N=4), ii) ARNip de TBP16-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) (N=4) a una concentración efectiva de ARNip de 1 mg/kg, o iii) ARNip de TBP15-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) a una concentración efectiva de ARNip de 1 mg/kg o 10 mg/kg (N=4 cada uno) y sacrificados 29 días después de la primera dosis. Para las tomas, los animales anestesiados profundamente se sometieron a perfusión cardíaca, después se recolectaron y procesaron tejidos cerebrales para RT-qPCR en homogeneizados de tejido.

Los datos de RT-qPCR mostraron una reducción sólida del ARNm de SNCA que oscilaba entre el 60 y el 80 % en todas las regiones clave del cerebro con una dosis de ARNip de 1 mg/kg, lo que demuestra una alta eficacia del conjugado DAR1 (Figuras 13A y 13B). El aumento de la dosis diez veces a 10 mg/kg solo provocó una reducción adicional del 5-10 % en el ARNm de 1 mg/kg, lo que sugiere que la administración del fármaco mediada por TfR ya está saturada (Figura 13C).

8E. Relaciones de exposición y respuesta

Para comprender las relaciones de respuesta a la exposición para los estudios descritos en los Ejemplos 8B y 8D anteriores, la farmacocinética plasmática (PK) y la biodistribución de ARNip después de una dosis IV única, se

recolectaron muestras de plasma del estudio mencionado anteriormente y se cuantificó la exposición del ARNip asociado al conjugado en plasma o el ARNip total en tejido por HR-LC/MS (Figuras 13D y 13E). Brevemente, se usó
5 cromatografía líquida/espectrometría de masas (LC/MS, por sus siglas en inglés) para medir los niveles de ARNip totales o asociados al conjugado en muestras de tejido y plasma de Cynomolgus. Los estándares de plasma se prepararon añadiendo plasma de mono de control. Los estándares de tejido se
10 prepararon homogeneizado el tejido de control. Para controlar la variabilidad del ensayo, se añadió un estándar interno a todos los estándares y muestras.

Para el ARNip asociado al conjugado, los estándares de plasma y las muestras se incubaron con un
15 anticuerpo IgG antihumano de cabra policlonal biotinilado (Southern Biotech, Birmingham, AL) seguido de una segunda incubación con perlas de estreptavidina (Promega, Madison, WI). El complejo de perlas IgG-ARNip-estreptavidina se aisló en un separador magnético y se descartó el sobrenadante. Las
20 muestras y los estándares se lavaron con solución salina tamponada con fosfato seguido de elución de ARNip asociado al conjugado de las perlas con trietilamina. Los estándares y las muestras se inyectaron en un sistema LC/MS.

Las muestras de tejido se homogeneizaron en
25 tampón de lisis celular. Para las mediciones de ARNip totales, los estándares y las muestras de tejido se

digirieron con proteinasa K antes de cargarlos en una placa de extracción en fase sólida en microelución (SPE, por sus siglas en inglés) de Oasis Wax (Waters Inc, Milford, MA) para el aislamiento. La placa de SPE se lavó con tampones de lavado y después los analitos se eluyeron con tampón de elución. Los eluyentes de las placas de SPE se secaron, reconstituyeron e inyectaron en un sistema LC/MS.

El ARNip asociado al conjugado o el ARNip total se midieron usando un espectrómetro de masas Thermo Orbitrap Exploris 240 (Thermo Scientific, San Jose, CA) usando el pico de la cadena no codificante para la cuantificación. El espectrómetro de masas funcionó en modo de detección de iones negativos. Todos los datos se procesaron con Xcalibur versión 4.4 (Thermo Scientific, San Jose, CA).

Para el conjugado TBP15-SNCA (DAR1), basado en el AUC(0-168h), la PK plasmática parece ser mayor que la dosis proporcional (7,8 mM*h vs. 111,6 mM*h) entre las dosis de ARNip de 1 y 10 mg/kg (Figura 13D). Esta PK plasmática está de acuerdo con la eliminación mediada por TMDD. Para el conjugado DAR2 a 10 mg/kg de ARNip, el ARNip de TBP14-SNCA (DAR2), el AUC(0-72h) fue 78 mM*h, una exposición aproximadamente 1,8 veces menor que la observada para el ARNip de TBP15-SNCA (DAR1) a la misma dosis.

Para el ARNip de TBP15-SNCA (DAR1), la PK plasmática dependiente de la dosis se traduce en la distribución cerebral, aunque con un perfil proporcional

aún menor que la exposición al plasma (Figuras 13E). Para una dosis dada, la exposición en diferentes regiones cerebrales fue similar. La exposición cerebral para TBP14-SNCA (DAR2) a los 3 meses fue indetectable de acuerdo con la exposición plasmática más baja (datos no mostrados).

Ejemplo 9. Caracterización adicional de los conjugados de proteína de unión a TfR humano-ARNbc en ratones transgénicos TfR humanos (hTfR)

Para comprender el impacto de DAR en la PK plasmática y la biodistribución de ARNip después de una única dosis IV única de los conjugados de proteína de unión a TfR humano-ARNbc, el conjugado de ARNip de TBP14-SNCA (DAR1) y el conjugado de ARNip de TBP14-SNCA (DAR2) se dosificaron en ratones transgénicos hTfR a 10 mg/kg y se recolectaron muestras de plasma y se cuantificó la exposición del ARNip asociado al conjugado mediante HR-LC/MS en varios momentos posteriores a la dosis durante 1 mes (Figura 14A). Basado en el AUC(0-168h), la PK plasmática para DAR1 es 3,5 veces mayor que la de DAR2 (323 mM*h vs. 92 mM*h). Esta PK plasmática está de acuerdo con la eliminación mediada por TMDD. Esta PK plasmática dependiente de la dosis se traduce en el cerebro, donde se observan exposiciones de hasta 3,6 veces más altas para DAR1 en comparación con DAR2 (Figuras 14B).

La Figura 14C muestra concentraciones de tejido cerebral de ARNip total en ratones transgénicos TfR humanos

24 horas después de una única administración IV periférica del ARNip de TBP14-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR2) o ARNip de TBP15-SNCA (ARNbc núm. 10 en la Tabla 11a) conjugado (DAR1) a través de dosis variables
5 de ARNip.

Las relaciones de eficacia farmacodinámica de DAR1 y DAR2 de los conjugados de proteínas de unión a TfR humanos-ARNbc se evaluaron en diversas dosis con concentraciones de anticuerpos y ARNip equivalentes para determinar el impacto
10 de la reducción de la dosis. El conjugado de ARNip de TBP15-SNCA (DAR1) y el conjugado de ARNip de TBP14-SNCA (DAR2) se dosificaron en ratones transgénicos hTfR mediante una única inyección IV a 20, 10, 5, 2,5 y 0,5 mg/kg de ARNip en comparación con el grupo dosificado con PBS (n=4 cada uno)
15 como se indica en la Figura 14D. Para las tomas, los animales anestesiados profundamente se sometieron a perfusión cardíaca 28 días después de la dosificación IV, después se recolectaron los tejidos cerebrales y procesaron para RT-qPCR en homogeneizados de tejido. Como se muestra en la
20 Figura 14D, el conjugado de ARNip de TBP15-SNCA (DAR1) demostró una mayor eficacia de la KD de ARNm de SNCA en todos los niveles de dosis coincidentes en comparación con el conjugado de ARNip de TBP14-SNCA (DAR2). Específicamente, para el conjugado de ARNip de TBP15-SNCA (DAR1), la dosis
25 de 10 mg/kg de ARNip provocó el 8 % de ARNm restante, la dosis de 5 mg/kg de ARNip provocó el 10 % de ARNm restante,

la dosis de 2,5 mg/kg de ARNip provocó el 13 % de ARNm restante y la dosis de 0,5 mg/kg de ARNip provocó el 24 % de ARNm restante. Para el conjugado de ARNip de TBP14-SNCA (DAR2), la dosis de 20 mg/kg de ARNip provocó 17 % de ARNm restante, la dosis de 10 mg/kg de ARNip provocó el 20 % de ARNm restante, la dosis de 5 mg/kg de ARNip provocó el 23 % de ARNm restante y la dosis de 0,5 mg/kg de ARNip provocó el 59 % de ARNm restante. En particular, se demostró una eficacia de reducción de la dosis del fármaco de ARNip de 10 veces al comparar reducciones similares de ARNm a 5 mg/kg de conjugado de ARNip de TBP14-SNCA (DAR2) (23 % restante) en comparación con el conjugado de ARNip de TBP15-SNCA (DAR1) a 0,5 mg/kg (24 % restante). Esta tendencia también se observó a una dosis más alta cuando se comparó reducciones similares de ARNm a 20 mg/kg de conjugado de ARNip de TBP14-SNCA (DAR2) (17 % restante) en comparación con el conjugado de ARNip de TBP15-SNCA (DAR1) a 2,5 mg/kg (13 % restante).

Habiendo demostrado la alta potencia de DAR1 de los conjugados de proteínas de unión a TfR humanos-ARNbc mediante la administración intravenosa, se evaluó la eficacia del conjugado de ARNip de TBP15-SNCA (DAR1) administrado mediante una única administración subcutánea (SC) a dosis de ARNip de 5, 2, 0,5 y 0,25 mg/kg. Para las tomas, los animales anestesiados profundamente se sometieron a perfusión cardíaca 28 días después de la dosificación SC, después se recolectaron los tejidos

cerebrales y procesaron para RT-qPCR en homogeneizados de tejido. Los datos indicaron una eficacia similarmente alta a la de la administración SC en todas las dosis evaluadas, demostrando un 11 % de ARNm remanente a la dosis de 5 mg/kg, un 15 % remanente a la dosis de 2 mg/kg, un 30 % de ARNm remanente a la dosis de 0,5 mg/kg y un 42 % de ARNm remanente a la dosis de 0,25 mg/kg (Figura 14E).

Listado de secuencias

Sec. con núm. de ident.	Secuencia
1	SYSMN
2	SISRSSSYIYYADSVKG
3	EHGYSNSDAFDI
4	RASQGISNYLA
5	AASSLQS
6	LQHNSYPRT
7	IHGYSNSDAFDK
8	IHGYSNSDAFDI
9	RASQGISHYLV
10	SISSSSSYIYYADSVKG
11	RHGYSNSDAFDN
12	LQHNSYPWT
13	TYWMH
14	RINGDGSRTNYADSVKG
15	SSYAFDV
16	RSSQSLLDSDDGSTYLD
17	LLSNRAS
18	MQRIEFPLT
19	RINSDGSRTNYADSVKG
20	SSYAFHV
21	SISX _{aa1} SSSYIYYADSVKG, en donde X _{aa1} = R o S
22	X _{aa1} HGYSNSDAFD X _{aa2} , en donde X _{aa1} = E, I o R; X _{aa2} = I, K o N
23	RASQGIS X _{aa1} YL X _{aa2} , en donde X _{aa1} = N o H; X _{aa2} = A o V

24	LQHNSYP $X_{aa1}T$, en donde $X_{aa1} = R \text{ o } W$
25	RINX _{aa1} DGSRTNYADSVKG, en donde $X_{aa1} = G \text{ o } S$
26	SSYAF $X_{aa1}V$, en donde $X_{aa1} = D \text{ o } H$
27	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREHGYSNSDAFDIWGGQGLTVTVSS
28	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIK
29	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDKWGGQGLTVTVSS
30	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDIWGGQGLTVTVSS
31	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIK
32	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGGQGLTVTVSS
33	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK
34	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRTYWMHWVRQAPGKGLVWSRINGDGSRTNYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCARSSYAFDVWGGQGLTVTVSS
35	DVVMQTPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLSNRASGVPDRFSGS GSGTFTLTKISSVEAADVGVIYCMQRIEFPLTFGGGKTKVEIK
36	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRTYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSRTNYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFDVWGGQGLTVTVSS
37	DIVMTQTPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLSNRASGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCMQRIEFPLTFGGGKTKVEIK
38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRTYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSRTNYADSVKGRFT ISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFHVWGGQGLTVTVSS
39	ETAVA
40	GIGGGVDITYYADSVKG
41	RPGRPLITSKVADLYPY
42	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRYIDETAVAWFRQAPGKGREFVAGIGGGVDITYYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGARPGRPLITSKVADLYPYWGGQGLTVTVSSPP
43	SYAIE
44	GILPGSGTINYNEKFKG
45	MSSNSDQGFDL
46	KASQGISRFLS
47	AVSSLVD
48	VQYNSYPYG
49	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYAIEWVRQAPGQGLEWMGGILPGSGTINYNEKFKGRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMSSNSDQGFDLWGGQGLTVTVSS
50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQGISRFLSWFQQKPGKAPKSLIYAVSSLVDGVPSPRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCVQYNSYPYGFGGGKTKVEIK
51	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYAIEWVRQAPGQGLEWMGGILPGSGTINYNEKFKGRVTIT ADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMSSNSDQGFDLWGGQGLTVTVSSASTKGPXVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLGL, en donde X es S o C.

52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQGISRFLSWFQQKPGKAPKSLIYAVSSSLVDGVPSPRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCVQYNSYPYFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
53	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREHGYNSNDAFDIWGGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
54	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPKRLLIYAASSLQSGVPSPRFSGSGSGT EFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
55	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYNSNDAFDKWGGTTLVTVSSASTKGXPVFLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLGLG, en donde X es S o C.
56	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYNSNDAFDIWGGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
57	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISHYLVWFQQKPGKVPKRLLIYAASSLQSGVPSPRFSGSGSGT EFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
58	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYADSVKGR FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYNSNDAFDNWGGTTLVTVSSASTKGXPVFLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTK YTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG, en donde X es S o C.
59	DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISHYLVWFQQKPGKVPKRLLIYAASSLQSGVPSPRFSGSGSGT EFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
60	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRITYMMHWVRQAPGKGLWVSRINGDGSRTNYADSVKGRFT ISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCARSSYAFDVWGGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNV DHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
61	DVVMVTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLLSNRASGVPDRFS GSGSGTVFTLKISSVEADVGVYYCMQRIEFLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
62	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRITYMMHWVRQAPGKGLWVSRINSDGSRTNYADSVKGRFT ISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFDVWGGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNV DHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVY

80	ALDMTQTASPVSAAVGGTVTINCQSSQSVYNNRLAWYQQKPGQPPKLLIYDASTLASGVPSRFKGS GTQFTLTISGVQSDSATYYCQGTFFSSGWSWAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
81	CUGUACAAGUGCUCAGUCCA
82	UGGAACUGAGCACUUGUACAGGA
83	UGUACAAGUGCUCAGUCCAA
84	UUGGAACUGAGCACUUGUACAGG
85	GAGCAAGUGACAAAUGUUGGA
86	UCCAACAUUUGUCACUUGCUCUU
87	UUCCAAUGUGCCCAGUCAUGA
88	UCAUGACUGGGCACAUUGGAACU
89	AGUGACUACCACUUAUUUCUA
90	UAGAAAUAAGUGGUAGUCACUUA
91	GUGACUACCACUUAUUUCUAA
92	UUAGAAAUAAGUGGUAGUCACUU
93	mC*mU*mGmUmAmCfAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmC*mC*mA* (amino C6)
94	[VPmU]*fG*mGmAmAfCmUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA
95	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmC*mC*mA* (amino C6)
96	[VPmU]*fG*mGmAfAmCfUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA
97	[VPmU]*fG*mGmAfAmCmUfGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA
98	[VPmU]*fG*fGmAmAmCfUmGmAmGmCmAmCfUmUfGmUmAmCmAmG*mG*mA
99	iAbmC*mU*mGmUmAmCfAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmC*mC*mA* (amino C6)
100	mU*mG*mUmAmCmAfAmGfUfGfCmUmCmAmGmUmCmC*mA*mA* (amino C6)
101	[VPmU]*fU*mGmGmAfAmCmUmGmAmGmCmAfCmUfUmGmUmAmCmAmG*mG
102	mG*mU*mGmAmCmUfAmCfCfAfCmUmUmAmUmUmCmU*mA*mA* (amino C6)
103	[VPmU]*fU*mAmGmAfAmAmUmAmAmGmUmGfGmUfAmGmUmCmAmC*mU*mU
104	mG*mA*mGmCmAmAfGmUfGfAfCmAmAmAmUmGmUmUmG*mG*mA* (amino C6)
105	[VPmU]*fC*mCmAmAfCmAmUmUmUmGmUmCfAmCfUmUmGmCmUmC*mU*mU
106	mA*mG*mUmGmAmCfUmAfCfCfAmCmUmUmAmUmUmCmU*mU*mA* (amino C6)
107	[VPmU]*fA*mGmAmAfAmUmAmAmGmUmGmGfUmAfGmUmCmAmCmU*mU*mA
108	iAbmA*mG*mUmGmAmCfUmAfCfCfAmCmUmUmAmUmUmCmU*mU*mA* (amino C6)
109	1 GCGACGACC AGAAGGGGCC CAAGAGAGGG GCGAGCGAC CGAGCGCCGC GACGCGAAG 61 TGAGGTGCGT GCGGGCTGCA GCGCAGACCC CGGCCCGGCC CCTCCGAGAG CGTCCTGGGC 121 GCTCCCTCAC GCCTTGCTT CAAGCCTTCT GCCTTTCCAC CCTCGTGAGC GGAGAACTGG 181 GAGTGGCCAT TCGACGACAG TGTGGTGTA AGGAATTCAT TAGCCATGGA TGTATTCATG 241 AAAGGACTTT CAAAGGCCAA GGAGGGAGTT GTGGCTGCTG CTGAGAAAAC CAAACAGGGT 301 GTGGCAGAAG CAGCAGGAAA GACAAAAGAG GGTGTTCTCT ATGTAGGCTC CAAAACCAAG 361 GAGGGAGTGG TGCATGGTGT GGCAACAGTG GCTGAGAAGA CCAAAGAGCA AGTGACAAAT 421 GTTGGAGGAG CAGTGGTGAC GGGTGTGACA GCAGTAGCCC AGAAGACAGT GGAGGGAGCA 481 GGGAGCATTG CAGCAGCCAC TGGCTTTGTC AAAAAGGACC AGTTGGGCAA GAATGAAGAA 541 GGAGCCCCAC AGGAAGGAAT TCTGGAAGAT ATGCCTGTGG ATCCTGACAA TGAGGCTTAT 601 GAAATGCCTT CTGAGGAAGG GTATCAAGAC TACGAACCTG AAGCCTAAGA AATATCTTTG 661 CTCCAGTTT CTTGAGATCT GCTGACAGAT GTTCCATCCT GTACAAGTGC TCAGTTCCAA 721 TGTGCCAGT CATGACATTT CTCAAAGTTT TTACAGTGTA TCTCGAAGTC TTCCATCAGC 781 AGTGATTGAA GTATCTGTAC CTGCCCCAC TCAGCATTTT GGTGCTTCCC TTTCACTGAA

	841 GTGAATACAT GGTAGCAGGG TCTTTGTGTG CTGTGGATT TGTGGCTTCA ATCTACGATG 901 TTAAACAAA TTAAACAC CTAAGTGA CTACCTTATT TCTAAATCCT CACTATTTTT 961 TTGTTGCTGT TGTTCAAG TTGTTAGTGA TTTGCTATCA TATATTATAA GATTTTTAGG 1021 TGTCTTTTAA TGATACTGTC TAAGAATAAT GACGTATTGT GAAATTTGTT AATATATATA 1081 ATACTTAAAA ATATGTGAGC ATGAACTAT GCACCTATAA ATACTAAATA TGAAATTTTA 1141 CCATTTTGCG ATGTGTTTTA TTCACTTGTG TTTGTATATA AATGGTGAGA ATTAATAATA 1201 AACGTTATCT CATTGCAAAA ATATTTTATT TTTATCCCAT CTCACTTTAA TAATAAAAAAT 1261 CATGCTTATA AGCAACATGA ATTAAGAACT GACACAAAGG AAAAAATAT AAAGTTATTA 1321 ATAGCCATTT GAAGAAGGAG GAATTTTAGA AGAGGTAGAG AAAATGGAAC ATTAACCCTA 1381 CACTCGAAT TCCCTGAAGC AACACTGCCA GAAGTGTGTT TTGGTATGCA CTGGTTCCTT 1441 AAGTGGCTGT GATTAATTAT TGAAAGTGGG GTGTGAAGA CCCCACTAC TATTGTAGAG 1501 TGGTCTATTT CTCCCTTCAA TCCTGTCAAT GTTGTCTTGA CGTATTTTGG GGAAGTGTG 1561 TTTGATGTGT ATGTGTTTAT AATTGTTATA CATTTTAAAT TGAGCCTTTT ATTAACATAT 1621 ATTGTTATTT TTGTCTCGAA ATAATTTTTT AGTTAAATC TATTTTGTCT GATATTGGTG 1681 TGAATGCTGT ACCTTTCTGA CAATAAATAA TATTCGACCA TGAATAAAAA AAAAAAAAAA 1741 GTGGGTCCC GGAACATAAG CAGTGTAGAA GATGATTTTG ACTACACCTT CCTTAGAGAG 1801 CCATAAGACA CATTAGCACA TATTAGCACA TTCAAGGCTC TGAGAGAATG TGGTTAACTT 1861 TGTTTTAACTC AGCATTCTCT ACTTTTTTTT TTTAATCATC AGAAATTCTC TCTCTCTCTC 1921 TCTCTTTTTC TCTCGCTCTC TTTTTTTTTT TTTTTTTACA GGAAATGCCT TTAAACATCG 1981 TTGGAAC TAC CAGAGTCACC TTAAGGAGA TCAATTCTCT AGACTGATAA AAATTTTCATG 2041 GCCTCCTTTA AATGTTGCCA AATATATGAA TTCTAGGATT TTTCTTAGG AAAGGTTTTT 2101 CTCTTTCAGG GAAGATCTAT TAACTCCCA TGGGTGCTGA AAATAAACTT GATGGTGAAA 2161 AACTCTGTAT AAATTAATTT AAAAATTATT TGGTTCTCT TTTTAATTAT TCTGGGCGAT 2221 AGTCATTCT AAAAGTCACT AGTAGAAAGT ATAATTCAA GACAGAATAT TCTAGACATG 2281 CTAGCAGTTT ATATGTATTC ATGAGTAATG TGATATATAT TGGGCGCTGG TGAGGAAGGA 2341 AGGAGGAATG AGTACTATA AGGATGGTTA CCATAGAAAC TTCCTTTTTT ACCTAATTGA 2401 AGAGAGACTA CTACAGAGTG CTAAGCTGCA TGTGTCATCT TACACTAGAG AGAAATGGTA 2461 AGTTTCTTGT TTTATTTAAG TTATGTTTAA GCAAGGAAAG GATTTGTAT TGAACAGTAT 2521 ATTTCAGGAA GGTTAGAAAG TGGCGGTTAG GATATATTTT AAATCTACCT AAAGCAGCAT 2581 ATTTTAAAAA TTTAAAAGTA TTGGTATTAA ATTAAGAAAT AGAGGACAGA ACTAGACTGA 2641 TAGCAGTGAC CTAGAACAAT TTGAGATTAG GAAAGTTGTG ACCATGAATT TAAGGATTTA 2701 TGTGGATACA AATTCTCCTT TAAAGTGTTT CTTCCTTAA TATTTATCTG ACGGTAATTT 2761 TTGAGCAGTG AATTACTTTA TATATCTTAA TAGTTTATTT GGGACCAAC ACTTAAACAA 2821 AAAGTTCTTT AAGTCATATA AGCCTTTTCA GGAAGCTTGT CTCATATTCA CTCCCAGAC 2881 ATTCACCTGC CAAGTGGCTT GAGGATCAAT CCAGTCCTAG GTTTATTTTG CAGACTTACA 2941 TTCTCCAAG TTATTCAGCC TCATATGACT CCACGGTCGG CTTTACCAA ACAGTTCAGA 3001 GTGCACTTTG GCACACAATT GGAACAGAA CAATCTAATG TGTGGTTTGG TATTCCAAGT 3061 GGGTCTTTT TCAGAATCTC TGCACTAGTG TGAGATGCAA ACATGTTTCC TCATCTTTCT 3121 GGCTTATCCA GTATGTAGCT ATTTGTGACA TAATAAATAT ATACATATAT GAAAATA
110	1 MDVFMKGLSK AKEGVVAAAE KTKQGVAAEA GKTKEGVLYV GSKTKEGVVH GVATVAEKT 61 EQVTNVGGAV VTGVTAVAQK TVEGAGSIAA ATGFVKDQL GKNEEGAPQE GILEDMPVDP 121 DNEAYEMPSE EGYQDYEPEA
111	1 MMDQARSASF NLFGEPLSY TRFSLARQVD GDNHVMKLV AVDEEENADN NTKANVTCPK 61 RCGSICIGT IAVIVFFLIG FMIGYLGICK GVEPKTECER LAGTESPVRE EPGEDFPAAR 121 RLYWDDLKRK LSEKLDSTDF TGTIKLLNEN SYVPREAGSQ KDENLALYVE NQFREFKLSK 181 VWRDQHFVKI QVKDSAQNSV IIVDKNGRLV YLVENPPGYV AYSKAATVTG KLVHANFGTK 241 KDFEDLYTPV NGSIVIVRAG KITFAEKVAN AESLNAIGVL IYMDQTKFPI VNAELSFHGH 301 AHLGTGDPYT PGFSPFNHTQ FPPSRSSGLP NIPVQTISRA AAEKLFNGME GDCPSDWKTD 361 STCRMVTSSES KNVKLTVSNV LKEIKILNIF GVIKGFVEPD HYVVVGAQRD AWGPGAASKG 421 VGTALLKLKLA QMFSDMVLKD GFQPSRSIIF ASWSAGDFGS VGATEWLEGY LSSLHLKAFT 481 YINLDAVLG TSNFKVSASP LLYTLIEKTM QNVKHPVTGQ FLYQDSNWS KVEKLTLDNA 541 AFPFLAYSGI PAVSFCFCED TDYPYLGTTM DTYKELIERI PELNKVARAA AEVAGQFVIK 601 LTHDVELNLD YERYNSQLLS FVRDLNQYRA DIKEMGLSLQ WLYSARGDFF RATSRLTTDF 661 GNAEKTDRFV MKKLNDVRMR VEYHFLSPYV SPKESPFRRHV FWGSGSHTLP ALLENLKLK

	721 QNNGAFNETL FRNQLALATW TIQGAANALS GDVWDIDNEF
112	1 MMDQARSFAFS NLFGGEPLSY TRFSLARQVD GDNSHVEMKL AADEEENADN NMKASVRKPK 61 RFNGRLCFAA IALVIFFLIG FMSGYLG YCK RVEQKEECVK LAETEETDKS ETMETEDVPT 121 SSRLYWADLK TLLSEKLNSI EFADTIKQLS QNTYTPREAG SQKDESLAYY IENQFHEFKF 181 SKVWRDEHYV KIQVKSSIGQ NMVTIVQSNG NLDPVESPEG YVAFSKPTEV SGKLVHANFG 241 TKKDFEELSY SVNGSLVIVR AGEITFAEKV ANAQSFNAIG VLIYMDKNKF PVVEADLALF 301 GHAHLGTGDP YTPGFPSFNH TQFPPSQSSG LPNIPVQTIS RAAAEKLF GK MEGSCPARWN 361 IDSSCKLELS QNQNVKLIVK NVLKERRILN IFGVIKGYEE PDRYVVVGAQ RDALGAGVAA 421 KSSVGTGLLL KLAQVFSDMI SKDGFPRSR IIFASWTAGD FGAVGATEWL EGYLSSLHLK 481 AFTYINLDKV VLGTSNFKVS ASPLLYTLMG KIMQDVKHPV DGKSLYRDSN WISKVEKLSF 541 DNAAYPFLAY SGIPAVSFCF CEDADYPYL G TRLDTYEALT QKVPQLNQMV RTAAEVAGQL 601 IIKLTHDVEL NLDYEMYSK LLSFMKDLNQ FKTDIRDMLG SLQWLYSARG DYFRATSRLT 661 TDFHNAEKTN RFVMREINDR IMKVEYHFLS PYVSPRES PF RHIFWGSGSH TLSALVENLK 721 LRQKNITAFN ETLFRNQLAL ATWTIQGVAN ALSGDIWNID NEF
113	HHHHHHCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMETEDVPTSSRLYWADLK TLLSEKLNSIEFADTIKQLS QNTYTPREAGSQKDESLAYY IENQFHEFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGNLDPVESPEG YVAFSKPTEVSGKLVHANFGTKKDFEELSYSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMDKNK FPVVEADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRRAAEKLF GKMEGSCPAR WNIDSSCKLELSQNQNVKLIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVVGAQRDALGAGVAAKSSVGTG LLKLAQVFSDMISKDGFPRSR IIFASWTAGDFGAVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKVVLTGTSN FKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGKSLYRDSN WISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDAD YPYLGTRLDTYEALTQKVPQLNQMVRTAAEVAGQL IIKLTHDVELNLDYEMYSKLLSFMKDLNQFKTD IRDMGLSLQWLYSARGDYFRATSRLTDFHNAEKTNRVMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRES PF RHIF FWGSGSHTLSALVENLKL RQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALS GDIWNIDNEF
114	HHHHHHCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLNENSYV PREAGSQKDENLALYVENQFREFKLSKVWRDQHFKVIQVKDSAQNSV IVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSK AATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAEL SFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRRAAEKLF GNMEGDCPSDWKTDSTCRMV TSESKNVKLT VSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGAAGSGVGTALLKLAQMFSDMV LKDGFQPSRS IIFASWSAGDFGSGVATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLEIK TMQNVKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIER IPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTLDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIEMGLSLQWLYSARGDFF RATSRLTDFGNAEKTDRFVMKKLNDVRMVEYHFLSPYVSPKESPF RHVFWGSGSHTLPALLENLKL RQ NNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALS GVDWDIDNEF
115	HHHHHHHHGKPIPNPLLGLDSTGGGSDSAQNSV IVDKNGRLVYLVENPGGYVAYS KAATVTGKLVHA NFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLG GGGGGLPNIPVQTISRRAAEKLF GNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVS
116	CUGUACAAGnGCUCAGUCCA, en donde n es una entidad abásica.
117	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGnfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA* (amino C6), en donde n es la entidad abásica en la Tabla 10.
118	mC*mU*mGmUmAmCfAmAfGnfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA* (amino C6), en donde n es la entidad abásica en la Tabla 10.
119	FGNMEGDCPSDWKTDSTCR
120	GUGGAAGUAAAAUCUGAGAAA
121	UUUCUCAGAUUUUACUCCACCU
122	CCAAGUGUGGCUCAUUAGGCA
123	UGCCUAAUGAGCCACACUUGGAG
124	UGCAAAUAGUCUACAAACCAA
125	UUGGUUUUGUAGACUAAUUGCACC
126	mG*mU*mGmGmAmAfGmUfAfAfAmAmUmCmUmGmAmGmA*mA*mA* (amino C6)
127	[VPmU]*fU*mUmCmUfCmAmGmAmUmUmUfAmCfUmUmCmCmAmC*mC*mU
128	mC*mC*mAmAmGmUfGmUfGfGfCmUmCmAmUmUmAmGmG*mC*mA* (amino C6)
129	[VPmU]*fG*mCmCmUfAmAmUmGmAmGmCmCfAmCfAmCmUmUmGmG*mA*mG

130	mU*mG*mCmAmAmAfUmAfGfUfCmUmAmCmAmAmAmCmC*mA*mA* (amino C6)
131	[VPmU]*fU*mGmGmUfUmUmGmUmAmGmAmCfUmAfUmUmUmGmCmA*mC*mC
132	mG*mU*mGmGmAmAmGmUfAfAfAmAmUmCmUmGmAmGmA*mA*mA* (amino C6)
133	[VPmU]*fU*mUmCfUmCmAfGmAmUmUmUfAmCfUmUmCmCmAmC*mC*mU
134	mC*mC*mAmAmGmUmGmUfGfGfCmUmCmAmUmUmAmGmG*mC*mA* (amino C6)
135	[VPmU]*fG*mCmCfUmAmAfUmGmAmGmCmCfAmCfAmCmUmUmGmG*mA*mG
136	mU*mG*mCmAmAmAmUmAfGfUfCmUmAmCmAmAmAmCmC*mA*mA* (amino C6)
137	[VPmU]*fU*mGmGfUmUmUfGmUmAmGmAmCfUmAfUmUmUmGmCmA*mC*mC
138	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGQGTLTVTSSASTKGPCVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPR EPQVSTLPPSQEEMTKNQVSLMCLVYGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSVLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
139	ESKYGPCCPPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWWYVDGVEVHNAK KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQGDMTK NQVQLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLASRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLGLG
140	mC*mU*mGmUmAmCfAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA
141	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA
142	iAbmC*mU*mGmUmAmCfAmAfGfUfGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA
143	mU*mG*mUmAmCmAfAmGfUfGfCmUmCmAmGmUmUmC*mA*mA
144	mG*mU*mGmAmCmUfAmCfCfAfCmUmAmUmUmUmUmCmU*mA*mA
145	mG*mA*mGmCmAmAfGmUfGfAfCmAmAmAmUmGmUmUmG*mG*mA
146	mA*mG*mUmGmAmCfUmAfCfCfAmCmUmUmAmUmUmUmC*mU*mA
147	iAbmA*mG*mUmGmAmCfUmAfCfCfAmCmUmUmAmUmUmUmC*mU*mA
148	mC*mU*mGmUmAmCmAmAfGn fGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA
149	mC*mU*mGmUmAmCfAmAfGn fGmCmUmCmAmGmUmUmC*mC*mA
150	mG*mU*mGmGmAmAfGmUfAfAfAmAmUmCmUmGmAmGmA*mA*mA
151	mC*mC*mAmAmGmUfGmUfGfGfCmUmCmAmUmUmAmGmG*mC*mA
152	mU*mG*mCmAmAmAfUmAfGfUfCmUmAmCmAmAmAmCmC*mA*mA
153	mG*mU*mGmGmAmAmGmUfAfAfAmAmUmCmUmGmAmGmA*mA*mA
154	mC*mC*mAmAmGmUmGmUfGfGfCmUmCmAmUmUmAmGmG*mC*mA
155	mU*mG*mCmAmAmAmUmAfGfUfCmUmAmCmAmAmAmCmC*mA*mA
156	GCAGTCACCGCCACCCACCAGCTCCGGCACCAACAGCAGCGCCGCTGCCACCGCCACCT TCTGCCGCCGCCACCACAGCCACCTTCTCCTCCTCCGCTGTCTCTCCCGTCTCGCCTC TGTCGACTATCAGGTGAACCTTGAACCAGGATGGCTGAGCCCCGCCAGGAGTTGCAAGTG ATGGAAGATCACGCTGGGACGTACGGGTTGGGGGACAGGAAAGATCAGGGGGGCTACACC ATGCACCAAGACCAAGAGGGTGACACGGACGCTGGCCTGAAAGAATCTCCCCTGACAGACC CCCACTGAGGACGGATCTGAGGAACCGGCTCTGAAACCTCTGATGCTAAGAGCACTCCA ACAGCGGAAGATGTGACAGCACCTTAGTGGATGAGGGAGCTCCCGCAAGCAGGCTGCC GCGCAGCCCCACACGGAGATCCCAGAAGGAACCACAGCTGAAGAAGCAGGCATTTGGAGAC ACCCCCAGCCTGGAAGACGAAGCTGCTGGTCACGTGACCCAAGAGCCTGAAAGTGGTAAG GTGGTCCAGGAAGGCTTCCCTCCGAGAGCCAGGCCCCCAGGTCTGAGCCACCAGCTCATG TCCGGCATGCCTGGGGCTCCCTCCTGCCTGAGGGCCCCAGAGAGGCCACACGCCAACCT TCGGGGACAGGACCTGAGGACACAGAGGGCGGCCGCCACGCCCTGAGCTGCTCAAGCAC

	CAGCTTCTAGGAGACCTGCACCAGGAGGGGCCGCCGCTGAAGGGGGCAGGGGGCAAAGAG AGGCCGGGGAGCAAGGAGGAGGTGGATGAAGACCGCGACGTCGATGAGTCCTCCCCCAA GACTCCCCCTCCCTCCAAGGCCCTCCCCAGCCCAAGATGGGCGGCCCTCCCCAGACAGCCGCC AGAGAAGCCACCAGCATCCCAGGCTTCCCAGCGGAGGGTGCCATCCCCCTCCCTGTGGAT TTCTCTCCAAAGTTTCCACAGAGATCCCAGCCTCAGAGCCCGACGGGGCCAGTGTAGGG CGGGCCAAAGGGCAGGATGCCCCCTGGAGTTCACGTTTACGTGGAAATCACACCCAAC GTGCAGAAGGAGCAGGCGCACTCGGAGGAGCATTGGGAAGGGCTGCATTTCCAGGGGCC CCTGGAGAGGGGCCAGAGGCCCGGGGCCCTCTTTGGGAGAGGACACAAAAGAGGCTGAC CTTCCAGAGCCCTCTGAAAAGCAGCCTGCTGCTGCTCCGCGGGGAAGCCCGTCAGCCGG GTCCCTCAACTCAAAGCTCGCATGGTCAGTAAAAGCAAAGACGGGACTGGAAGCGATGAC AAAAAGCCAAGACATCCACACGTTCTCTGCTAAAACCTTGAAAAATAGGCCTTGCTTT AGCCCCAAACACCCCACTCTGGTAGCTCAGACCCTCTGATCCAAACCCTCCAGCCCTGCT GTGTGCCCAGAGCCACCTTCTCTCTCTAAATACGTCTCTTCTGTCACTTCCCGAACTGGC AGTTCTGGAGCAAAGGAGATGAACTCAAGGGGGCTGATGGTAAAACGAAGATCGCCACA CCGCGGGGAGCAGCCCTCCAGGCCAGAAGGGCCAGGCCAACGCCACCAGGATTCAGCA AAAACCCCGCCCGCTCCAAAGACACCACCCAGCTCTGCGACTAAGCAAGTCCAGAGAAGA CCACCCCTGCAGGGCCAGATCTGAGAGAGGTGAACCTCCAAAATCAGGGGATCGCAGC GGCTACAGCAGCCCCGGCTCCCCAGGCACTCCCGGCAGCCGCTCCCGCACCCCGTCCCTT CCAACCCACCCACCCGGGAGCCCAAGAAGGTGGCAGTGGTCCGTACTCCACCCAAGTCG CCGTCTTCGCCAAGAGCCGCTGCAGACAGCCCCGTGCCATGCCAGACCTGAAGAAT GTCAAGTCCAAGATCGGCTCCACTGAGAACCTGAAGCACCAGCCGGGAGGCGGGAAGGTG CAGATAATTAATAAGAAGCTGGATCTTAGCAACGTCCAGTCCAAGTGTGGCTCAAAGGAT AATATCAAACACGTCCCGGGAGGCGGCAGTGTGCAAATAGTCTACAAACCAGTTGACCTG AGCAAGGTGACCTCCAAGTGTGGCTCATTAGGCAACATCCATCATAAACCAGGAGGTGGC CAGGTGGAAGTAAAATCTGAGAAGCTTGACTTCAAGGACAGAGTCCAGTCGAAGATTGGG TCCCTGGACAATATCACCCAGTCCCTGGCGGAGGAAATAAAAAGATTGAAACCCACAAG CTGACCTTCCGCGGAGAACGCCAAAGCCAAGACAGACCACGGGGCGGAGATCGTGTACAAG TCGCCAGTGGTGTCTGGGGACACGTCTCCACGGCATCTCAGCAATGTCTCCTCCACCGGC AGCATCGACATGGTAGACTCGCCCCAGCTCGCCACGCTAGCTGACGAGGTGTCTGCCTCC CTGGCCAAGCAGGGTTTGTGATCAGGCCCCTGGGGCGGTCAATAATTGTGGAGAGGAGAG AATGAGAGAGTGTGGAAGAAAAAGAAATAATGACCCGGCCCCCGCCCTCTGCCCCAGCT GCTCCTCGCAGTTCGGTTAATTGGTTAATCACTTAACCTGCTTTTGTCACTCGGCTTTGG CTCGGGACTTCAAATCAGTGATGGGAGTAAGAGCAAATTTTCATCTTTCAAATTGATGG GTGGGCTAGTAATAAAATATTTAAAAAAAACATTCAAAAACATGGCCACATCCAACATT TCCTCAGGCAATTCTTTTGTATTCTTTTTTCTTCCCCCTCCATGTAGAAGAGGGAGAAGG AGAGGCTCTGAAAGCTGCTTCTGGGGGATTTCAAGGACTGGGGGTGCCAACCACCTCTG GCCCCTGTGTGGGGGTGTCACAGAGGCAGTGGCAGCAACAAAGGATTTGAAACTTGGTGT GTTCTGTGGAGCCACAGGCAGACGATGTCAACCTTGTGTGAGTGTGACGGGGGTGGGGTG GGGCGGGAGGCCACGGGGGAGGCCAGGCAGGGGCTGGGCAGAGGGGAGAGGAAGCACAA GAAGTGGGAGTGGGAGAGGAAGCCACGTGCTGGAGAGTAGACATCCCCCTCCTTGCCGCT GGGAGAGCCAAGGCCTATGCCACCTGCAGCGTCTGAGCGGCCGCTGTCTTTGGTGGCCG GGGGTGGGGGCTGCTGTGGGTCAGTGTGCCACCCTCTGCAGGGCAGCCTGTGGGAGAAG GGACAGCGGGTAAAAAGAGAAGGCAAGCTGGCAGGAGGGTGGCACTTCGTGGATGACCTC CTTAGAAAAGACTGACCTTGATGTCTTGAGAGCGCTGGCCTCTTCTCCTCCCTCCCTGCAGG GTAGGGGGCCTGAGTTGAGGGGCTTCCCTCTGCTCCACAGAAACCCTGTTTTATTGAGTT CTGAAGGTTGGAAGTGTGTCATGATTTTGGCCACTTTGCAGACCTGGGACTTTAGGGCT AACCAGTTCTCTTTGTAAGGACTTGTGCCCTCTTGGGAGACGTCCACCCGTTTCCAAGCCT GGGCCACTGGCATCTCTGGAGTGTGTGGGGTCTGGGAGGCAGGTCCCGAGCCCCCTGTC CTTCCCACGGCCACTGCAGTCACCCCGTCTGCGCCGCTGTGCTGTGTCTGCCGTGAGAG CCCAATCACTGCCTATACCCCTCATCACAGTCACAATGTCCGAATTCCCAGCCTCACC ACCCCTTCTCAGTAATGACCCTGGTTGGTTGCAGGAGGTACCTACTCCATACTGAGGGTG AAATTAAGGGAAGGCAAAGTCCAGGCACAAGAGTGGGACCCAGCCTCTCACTCTCAGTT
--	---

	CCACTCATCCAACCTGGGACCCTCACCACGAATCTCATGATCTGATTTCGGTTCCTGTCTC CTCTCCCGTCACAGATGTGAGCCAGGGCACTGCTCAGCTGTGACCCTAGGTGTTTCTGC CTTGTTGACATGGAGAGAGCCCTTTCCCTGAGAAGGCCTGGCCCCCTCCTGTGCTGAGC CCACAGCAGCAGGCTGGGTGTCTTGGTTGTCAGTGGTGGCACCAGGATGGAAGGGCAAGG CAGCCAGGGCAGGCCACAGTCCCGCTGTCCCCACTTGCACCCTAGCTTGTAGCTGCCA ACCTCCAGACAGCCAGCCCGCTGCTCAGCTCCACATGCATAGTATCAGCCCTCCACAC CCGACAAAGGGGAACACACCCCTTGGAATGGTTCTTTCCCCAGTCCCAGCTGGAAG CCATGCTGTCTGTCTGCTGGAGCAGCTGAACATATACATAGATGTTGCCCTGCCCTCCC CATCTGCACCCTGTTGAGTTGTAGTTGGATTTGTCTGTTTATGCTTGGATTACCCAGAGT GACTATGATAGTAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAGGACGCATGTATCTTGAAATGCTT GTAAAGAGGTTTCTAACCCACCCTCACGAGGTGTCTCTCACCCCCACACTGGGACTCGTG TGGCCTGTGTGGTGCCACCCTGCTGGGGCCTCCCAAGTTTGAAGGCTTTCCTCAGCAC CTGGGACCCAACAGAGACCAGCTTCTAGCAGCTAAGGAGGCCGTTACAGCTGTGACGAAGG CCTGAAGCACAGGATTAGGACTGAAGCGATGATGTCCCCTTCCCTACTTCCCCTTGGGGC TCCCTGTGTGAGGGCACAGACTAGGTCTTGTGGCTGGTCTGGCTTGC GGCGCAGGATGG TTCTCTCTGGTCATAGCCCGAAGTCTCATGGCAGTCCCAAAGGAGGCTTACAACCTCTGC ATCACAAGAAAAAGGAAGCCACTGCCAGCTGGGGGATCTGCAGCTCCCAGAAGCTCCGT GAGCCTCAGCCACCCTCAGACTGGGTTCCTCTCCAAGCTCGCCCTCTGGAGGGCAGCG CAGCCTCCCACCAAGGGCCCTGCGACCACAGCAGGGATTGGGATGAATTGCCTGTCTGG ATCTGCTCTAGAGGCCCAAGCTGCCTGCCTGAGGAAGGATGACTTGACAAGTCAGGAGAC ACTGTTCCCAAAGCCTTGACCAGAGCACCTCAGCCCCTGACCTTGCACAACTCCATCT GCTGCCATGAGAAAAGGGAAGCCGCTTTGCAAAACATTGCTGCCTAAAGAACTCAGCA GCCTCAGGCCCAATTCTGCCACTTCTGGTTTGGGTACAGTTAAAGGCAACCCTGAGGGAC TTGGCAGTAGAAATCCAGGGCCTCCCCTGGGGCTGGCAGCTTCGTGTGCAGCTAGAGCTT TACCTGAAAGGAAGTCTCTGGGCCAGAACTCTCCACCAAGAGCCTCCCTGCCGTTGCT GAGTCCCAGCAATTCTCCTAAGTTGAAGGGATCTGAGAAGGAGAAGGAAATGTGGGGTAG ATTTGGTGGTGGTTAGAGATATGCCCCCTCATTACTGCCAACAGTTTCGGCTGCATTTT TTCACGCACCTCGGTTCTCTCTCTGAAGTTCTTGTGCCCTGCTCTCAGCACCATGGGC CTTCTTATACGGAAGGCTCTGGGATCTCCCCCTTGTGGGGCAGGCTCTTGGGGCCAGCCT AAGATCATGGTTTAGGGTGATCAGTGTGGCAGATAAATTGAAAAGGCACGCTGGCTTGT GATCTTAAATGAGGACAATCCCCCAGGGCTGGGCACCTCCTCCCCCTCCCCTCACTTCTCC CACCTGCAGAGCCAGTGTCTTGGGTGGGCTAGATAGGATATACTGTATGCCGCTCCTT CAAGCTGCTGACTCACTTTATCAATAGTTCCATTTAAATTGACTTCAGTGGTGAGACTGT ATCCTGTTTGCTATTGCTTGTGTGCTATGGGGGGAGGGGGAGGAATGTGTAAGATAGT TAACATGGGCAAAGGGAGATCTTGGGTGCAGCACTTAACTGCCTCGTAACCCCTTTTCA TGATTTCAACCACATTTGCTAGAGGGAGGGAGCAGCCACGGAGTTAGAGGCCCTTGGGGT TTCTCTTTTCCACTGACAGGCTTTCCAGGCAGCTGGCTAGTTCATTCCCTCCCCAGCCA GGTGCAGGCGTAGGAATATGGACATCTGGTTGCTTTGGCCTGCTGCCCTCTTTCAGGGGT CCTAAGCCCACAATCATGCCTCCCTAAGACCTTGGCATCCTTCCCTCTAAGCCGTTGGCA CCTCTGTGCCACCTCTCACACTGGCTCCAGACACACAGCCTGTGCTTTTGGAGCTGAGAT CACTCGCTTACCCCTCCTCATCTTTGTTCTCCAAGTAAAGCCACGAGGTGCGGGCGAGGG CAGAGGTGATCACCTGCGTGTCCCATCTACAGACCTGCAGCTTCATAAACTTCTGATTT CTCTCAGCTTTGAAAAGGGTTACCCTGGGCACTGGCCTAGAGCCTCACCTCCTAATAGA CTTAGCCCCATGAGTTTGCCATGTTGAGCAGGACTATTTCTGGCACTTGCAAGTCCCATG ATTTCTTCGGTAATTCTGAGGGTGGGGGAGGGACATGAAATCATCTTAGCTTAGCTTTC TGTCTGTGAATGTCTATATAGTGATTGTGTGTTTTAACAAATGATTTACACTGACTGTT GCTGTAAAAGTGAATTTGGAATAAAGTTATTACTCTGATTAAA
157	MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPLQTPTEGSEEPG SETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAQPHTEIPEGTTAEEAGIGDTPSLEDEAAG HVTQEPESGKVVQEGFLREPGLSHQLMSGMPGAPLLPEGPREATRQPSGTGPEDTEG GRHAPELLKHQLLDLHQEGPPLKGAGGKERPGSKEEVEDEDRDVDESSPQDSPSKASPA QDGRPPQTAAREATSIPGFPAEGAIPLPVDFLSKVSTEIPASEPDGPSVGRAKQDAPLE

	FTFHVEITPNVQKEQAHSEEHLGRAAFPAPGEGPEARGPSLGEDTKEADLPEPSEKQPA AAPRGKPVSRVPQLKARMVSKSKDGTGSDDKKAKTSTRSSAKTLKNRPCLSPKHPTPGSS DPLIQPSSPAVCPEPPSSPKYVSSVTSRTGSSGAKEMKLKADGKTKIATPRGAAPPGQK GQANATRIPAKTPPAPKTPSSATKQVQRRPPPAGPRSERGEPPKSGDRSGYSSPGSPGT PGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNVSKIGSTEN LKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDLKVTSCGSL GNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGKNKKIETHKLTFRENAKAK TDHGAIEIVYKSPVVS GDTS PRHLSNVSSSTGSI DMVDS PQLATLADEV SASLAKQGL
158	GCAGTACCGCCACCCACCAGCTCCGGCACCAACAGCAGCGCCGCTGCCACCGCCACCT TCTGCCCGCCACCACAGCCACCTTCTCCTCCTCCGCTGTCTCTCCCGTCTCGCCTC TGTCGACTATCAGGTGAAC TTTGAACCAGGATGGCTGAGCCCCGCCAGGAGTTCGAAGTG ATGGAAGATCACGCTGGGACGTACGGGTGGGGGACAGGAAAGATCAGGGGGGCTACACC ATGCACCAAGACCAAGAGGGTGACACGGACGCTGGCCTGAAAGAATCTCCCTGCAGACC CCCACTGAGGACGGATCTGAGGAACCGGGCTCTGAAACCTCTGATGCTAAGAGCACTCCA ACAGCGGAAGCTGAAGAAGCAGGCATTGGAGACACCCCGAGCCTGGAAGACGAAGCTGCT GGTCACGTGACCCAAGCTCGCATGGTCAGTAAAAGCAAAGACGGGACTGGAAGCGATGAC AAAAAGCCAAGGGGGCTGATGGTAAAACGAAGATCGCCACACCGCGGGGAGCAGCCCT CCAGGCCAGAAGGGCCAGGCCAACGCCACCAGGATTCCAGCAAAAACCCCGCCCGCTCCA AAGACACCACCCAGCTCTGGTGAACCTCCAAAATCAGGGGATCGCAGCGGTACAGCAGC CCCGGCTCCCCAGGCACTCCCGGAGCCGCTCCCGCACCCCGTCCCTTCCAACCCACCC ACCCGGGAGCCCAAGAAGGTGGCAGTGGTCCGTACTCCACCCAAGTCGCCGTCTTCCGCC AAGAGCCGCTGCAGACAGCCCCGTGCCATGCCAGACCTGAAGAATGTCAAGTCCAAG ATCGGCTCCACTGAGAACCTGAAGCACCAGCCGGGAGGCGGGAAGGTGCAGATAATTAAT AAGAAGCTGGATCTTAGCAACGTCCAGTCCAAGTGTGGCTCAAAGGATAATATCAAACAC GTCCCGGAGGCGGCAGTGTGCAAATAGTCTACAAACCAAGTTGACCTGAGCAAGGTGACC TCCAAGTGTGGCTCATTAGGCAACATCCATCATAAACCAGGAGGTGGCCAGGTGGAAGTA AAATCTGAGAAGCTTGACTTCAAGGACAGAGTCCAGTCAAGATTGGGTCCCTGGACAAT ATCACCCACGTCCCTGGCGGAGGAAATAAAAAGATTGAAACCCACAAGCTGACCTTCCGC GAGAAGCCCAAAGCCAAGACAGACCACGGGGCGGAGATCGTGTACAAGTCGCCAGTGGTG TCTGGGGACACGTCTCCACGGCATCTCAGCAATGTCTCCTCCACCGGCAGCATCGACATG GTAGACTCGCCCCAGCTCGCCACGCTAGCTGACGAGGTGTCTGCCTCCCTGGCCAAGCAG GGTTTGTGATCAGGCCCCCTGGGGCGGTCAATAATTGTGGAGAGGAGAGAATGAGAGAGTG TGGAAAAAAAAGAATAATGACCCGGCCCCCGCCCTCTGCCCCAGCTGCTCCTCGCAGT TCGGTTAATTGGTTAATCACTTAACCTGCTTTTGTCACTCGGCTTTGGCTCGGGACTTCA AAATCAGTGATGGGAGTAAGAGCAAATTTTCATCTTTCCAAATTGATGGGTGGGCTAGTAA TAAATATTTAAAAAAAACATTCAAAAACATGGCCACATCCAACATTTCCCTCAGGCAAT TCCTTTTGATTCTTTTCTTCCCTCCATGTAGAAGAGGGAGAAGGAGAGGCTCTGAA AGCTGCTTCTGGGGATTTCAGGGACTGGGGTGCCAACCACCTCTGGCCCTGTTGTGG GGGTGTACAGAGGCAGTGGCAGCAACAAAGGATTTGAAACTTGGTGTGTCTCGTGGAGCC ACAGGCAGACGATGTCAACCTTGTGTGAGTGTGACGGGGGTGGGGTGGGGCGGGAGGCC ACGGGGGAGGCCGAGGCAGGGGCTGGGCAGAGGGGAGAGGAAGCACAAGAAGTGGGAGTG GGAGAGGAAGCCACGTGCTGGAGAGTAGACATCCCCCTCCTTGCCGCTGGGAGAGCCAAG GCCTATGCCACCTGCAGCGTCTGAGCGGCCGCTGTCTTGGTGGCCGGGGGTGGGGGCC TGCTGTGGGTCAGTGTGCCACCCTCTGCAGGGCAGCCTGTGGGAGAAGGGACAGCGGGTA AAAAGAGAAGGCAAGCTGGCAGGAGGGTGGCACTTCGTGGATGACCTCCTTAGAAAAGAC TGACCTTGATGTCTTGAGAGCGCTGGCCTCTTCTCCTCCCTCCCTGCAGGGTAGGGGGCCTG AGTTGAGGGGCTTCCCTCTGCTCCACAGAAACCTGTTTTATTGAGTTCTGAAGGTTGGA ACTGCTGCCATGATTTTGGCCACTTTCAGACCTGGGACTTAGGGCTAACCAGTTCTCT TTGTAAGGACTTGTGCCTCTTGGGAGACGTCCACCCGTTTCCAAGCCTGGGCCACTGGCA TCTCTGGAGTGTGTGGGGTCTGGGAGGCAGGTCCCGAGCCCCCTGTCTTCCACGGCC ACTGCAGTCACCCCGTCTGCGCCGCTGTGCTGTTGTCTGCCGTGAGAGCCCAATCACTGC CTATACCCCTCATCACACGTACAATGTCCCGAATTCACAGCCTCACCACCCCTTCTCAG

	TAATGACCCTGGTTGGTTGCAGGAGGTACCTACTCCATACTGAGGGTGAAATTAAGGGAA GGCAAAGTCCAGGCACAAGAGTGGGACCCAGCCTCTCACTCTCAGTTCCACTCATCCAA CTGGGACCCTCACCACGAATCTCATGATCTGATTTCGGTTCCCTGTCTCCTCCTCCCGTCA CAGATGTGAGCCAGGGCACTGCTCAGCTGTGACCCTAGGTGTTTCTGCCTTGTTGACATG GAGAGAGCCCTTTCCCTGAGAAGGCCTGGCCCTTCTGTGCTGAGCCCACAGCAGCAG GCTGGGTGTCTTGGTTGTGTCAGTGGTGGCACCAGGATGGAAGGGCAAGGCACCCAGGGCAG GCCCACAGTCCCGCTGTCCCCACTTGCACCCTAGCTTGTAGCTGCCAACCTCCAGACA GCCCAGCCCGCTGCTCAGCTCCACATGCATAGTATCAGCCCTCCACACCCGACAAAGGGG AACACACCCCTTGGAATGGTTCTTTTCCCCAGTCCCAGCTGGAAGCCATGCTGTCTG TTCTGCTGGAGCAGCTGAACATATACATAGATGTTGCCCTGCCCTCCCCATCTGCACCCT GTTGAGTTGTAGTTGGATTTGTCTGTTTATGCTTGGATTACCCAGAGTGACTATGATAGT GAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGACGCATGTATCTTGAAATGCTTGTAAGAGGTTT CTAACCCACCTCACGAGGTGTCTCTCACCCCACTGGGACTCGTGTGGCTGTGTGG TGCCACCCTGCTGGGGCCTCCCAAGTTTGAAGGCTTTCCTCAGCACCTGGGACCCAAC AGAGACCAGCTTCTAGCAGCTAAGGAGGCCGTTGAGCTGTGACGAAGGCCGTAAGCACAG GATTAGGACTGAAGCGATGATGTCCCCTTCCCTACTTCCCCTTGGGGCTCCCTGTGTGTCAG GGCACAGACTAGGTCTTGTGGCTGGTCTGGCTTGC GGCGGAGGATGGTTCTCTCTGGTCT ATAGCCCGAAGTCTCATGGCAGTCCCAAAGGAGGCTTACAACCTCCTGCATCACAAGAAAA AGGAAGCCACTGCCAGCTGGGGGATCTGCAGCTCCCAGAAGCTCCGTGAGCCTCAGCCA CCCCCTCAGACTGGGTTCCCTCTCCAAGCTCGCCCTCTGGAGGGGAGCGCAGCCTCCCACC AAGGGCCCTGCGACCACAGCAGGGATTGGGATGAATTGCCTGTCTGGATCTGCTCTAGA GGCCCAAGCTGCCTGCCTGAGGAAGGATGACTTGACAAGTCAGGAGACACTGTTCCCAAA GCCTTGACCAGAGCACCTCAGCCCGCTGACCTTGACACAACTCCATCTGCTGCCATGAGA AAAGGGAAGCCGCTTTGCAAAACATTGCTGCCTAAAGAACTCAGCAGCCTCAGGCCCA ATTCTGCCACTTCTGGTTTGGGTACAGTTAAAGGCAACCCTGAGGGACTTGGCAGTAGAA ATCCAGGGCCTCCCCTGGGGCTGGCAGCTTCGTGTGAGCTAGAGCTTTACCTGAAAGGA AGTCTCTGGGCCCAGAACTCTCCACCAAGAGCCTCCCTGCCGTTGCTGAGTCCCAGCAA TTCTCCTAAGTTGAAGGGATCTGAGAAGGAGAAGGAAATGTGGGGTAGATTTGGTGGTGG TTAGAGATATGCCCCCTCATTACTGCCAACAGTTTCGGCTGCATTTCTTCACGCACCTC GGTTCTCTTCTGAAGTTCTTGTGCCCTGCTCTTCAGCACCATGGGCCTTCTTATACGG AAGGCTCTGGGATCTCCCCCTTGTGGGGCAGGCTCTTGGGGCCAGCCTAAGATCATGGTT TAGGGTGATCAGTGTGTCAGATAAATTGAAAAGGCACGCTGGCTTGTGATCTTAAATGA GGACAAATCCCCCAGGGCTGGGCACTCCTCCCCTCCCCTCACTTCTCCCACCTGCAGAGC CAGTGTCTTGGGTGGGCTAGATAGGATATACTGTATGCCGGCTCCTTCAAGCTGCTGAC TCACTTTATCAATAGTTCCATTTAAATTGACTTCAGTGGTGAGACTGTATCCTGTTTGCT ATTGCTTGTTGTGCTATGGGGGGAGGGGGAGGAATGTGTAAGATAGTTAACATGGGCAA AGGGAGATCTTGGGGTGACACTTAAACTGCCTCGTAACCCTTTTCATGATTTCAACCA CATTTGCTAGAGGGAGGGAGCAGCCACGGAGTTAGAGGCCCTTGGGGTTTCTCTTTTCCA CTGACAGGCTTTCCAGGCAGCTGGCTAGTTTCAATCCCTCCCAGCCAGGTGCAGGCGTA GGAATATGGACATCTGGTTGCTTTGGCCTGCTGCCCTCTTTCAGGGGTCCTAAGCCCACA ATCATGCCCTCCCTAAGACCTTGGCATCCTTCCCTCTAAGCCGTTGGCACCTCTGTGCCAC CTCTCACACTGGCTCCAGACACACAGCCTGTGCTTTTGGAGCTGAGATCACTCGCTTCAC CCTCTCATCTTTGTTCTCCAAGTAAAGCCACGAGGTGCGGGCGAGGGCAGAGGTGATCA CCTGCGTGTCCATCTACAGACCTGCAGCTTCATAAACTTCTGATTTCTCTCAGCTTT GAAAAGGGTTACCTTGGGCACTGGCCTAGAGCCTCACCTCCTAATAGACTTAGCCCCATG AGTTTGCCATGTTGAGCAGGACTATTTCTGGCACTTGCAAGTCCCATGATTTCTTCGGTA ATTCTGAGGGTGGGGGAGGGACATGAAATCATCTTAGCTTAGCTTTCTGTCTGTGAATG TCTATATAGTGATTGTGTGTTTTAACAAATGATTTACACTGACTGTTGCTGTAAAAGTG AATTTGAAATAAAGTTATTACTCTGATTAAA
159	MAEPRQEFVEMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPLQTPTEDGSEEPG SETSDAKSTPTAEAEAGIGDTPSLEDEAAGHVQTARMVSKSKDGTGSDDKAKGADGKT KIATPRGAAPPQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSR

	SRTPSLPTPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLKNVSKIGSTENLKHQ PGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKCGSLGNIH HKPGGGQVEVKSEKLDKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHG AEIVYKSPVVSQDTSRHLNSVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSSASLAKQGL
160	GCAGTCACCGCCACCCACCAGCTCCGGCACCAACAGCAGCGCCGCTGCCACCGCCACCT TCTGCCGCGCCACCACAGCCACCTTCTCCTCCTCCGCTGTCTCTCCCGTCTCGCCTC TGTCGACTATCAGGTGAACCTTGAACCAGGATGGCTGAGCCCCGCCAGGAGTTCGAAGTG ATGGAAGATCACGCTGGGACGTACGGGTGGGGGACAGGAAAGATCAGGGGGCTACACC ATGCACCAAGACCAAGAGGGTGACACGGACGCTGGCCTGAAAGCTGAAGAAGCAGGCATT GGAGACACCCCGCCTGGAAGACGAAGCTGCTGGTCACGTGACCCAAGCTCGCATGGTC AGTAAAAGCAAAGACGGGACTGGAAGCGATGACAAAAAGCCAAGGGGGCTGATGGTAAA ACGAAGATCGCCACACCGCGGGGAGCAGCCCCTCCAGGCCAGAAGGGCCAGGCCAACGCC ACCAGGATTCCAGCAAAAACCCCGCCCGCTCCAAAGACACCACCAGCTCTGGTGAACCT CCAAAATCAGGGGATCGCAGCGGCTACAGCAGCCCCGGCTCCCCAGGCACTCCCGGCAGC CGTCCCGCACCCCGTCCCTTCCAACCCACCCACCGGGAGCCCAAGAAGTGGCAGTG GTCCGTACTCCACCAAGTCGCCGTCTCCGCCAAGAGCCGCTGCAGACAGCCCCGTG CCCATGCCAGACCTGAAGAATGTCAAGTCCAAGATCGGCTCCACTGAGAACCTGAAGCAC CAGCCGGGAGGCGGGAAGGTGCAAATAGTCTACAAACCAGTTGACCTGAGCAAGGTGACC TCCAAGTGTGGCTCATTAGGCAACATCCATCATAAACCAGGAGGTGGCCAGGTGGAAGTA AAATCTGAGAAGCTTGACTTCAAGGACAGAGTCCAGTTCGAAGATTGGGTCCCTGGACAAT ATCACCCACGTCCCTGGCGGAGGAAATAAAAAGATTGAAACCCACAAGCTGACCTTCCGC GAGAACGCCAAAGCCAAGACAGACCACGGGGCGGAGATCGTGTACAAGTCGCCAGTGGTG TCTGGGGACACGTCTCCACGGCATCTCAGCAATGTCTCCTCCACCGGCAGCATCGACATG GTAGACTCGCCCCAGCTCGCCACGCTAGCTGACGAGGTGTCTGCCTCCCTGGCCAAGCAG GGTTTGTGATCAGGCCCCCTGGGGCGGTCAATAATTGTGGAGAGGAGAGAATGAGAGAGTG TGGAATAAATAAATAATGACCCGCGCCCCGCCCCCTCTGCCCCAGCTGCTCCTCGCAGT TCGGTTAATTGGTTAATCACTTAACCTGCTTTTGTCACTCGGCTTTGGCTCGGGACTTCA AAATCAGTGATGGGAGTAAGAGCAAATTTTCATCTTTCCAAATTGATGGGTGGGCTAGTAA TAAAATATTTAAAAAAAACATTCAAAAACATGGCCACATCCAACATTTCTCAGGCAAT TCCTTTTGATTCTTTTTTCTCCCCCTCCATGTAGAAGAGGGAGAAGGAGAGGCTCTGAA AGCTGCTTCTGGGGGATTTCAAGGGACTGGGGGTGCCAACCACCTCTGGCCCTGTTGTGG GGGTGTCACAGAGGCAGTGGCAGCAACAAAGGATTTGAACTTGGTGTGTTCTGTGGAGCC ACAGGCAGACGATGTCAACCTTGTGTGAGTGTGACGGGGGTGGGGTGGGGCGGGAGGCC ACGGGGGAGGCCGAGGCAGGGGCTGGGCAGAGGGGAGAGGAAGCACAGAAGTGGGAGTG GGAGAGGAAGCCACGTGCTGGAGAGTAGACATCCCCCTCCTTGCCGCTGGGAGAGCCAAG GCCTATGCCACCTGCAGCGTCTGAGCGGCCGCTGTCTTGGTGGCCGGGGGTGGGGGCC TGCTGTGGGTCACTGTGCCACCTCTGCAGGGCAGCCTGTGGGAGAAGGGACAGCGGGTA AAAAGAGAAGGCAAGCTGGCAGGAGGGTGGCACTTCGTGGATGACCTCCTTAGAAAAGAC TGACCTTGATGTCTTGAGAGCGCTGGCCTCTTCTCCCTCCCTGCAGGGTAGGGGGCTG AGTTGAGGGGCTTCCCTCTGCTCCACAGAAACCTGTTTTATTGAGTTCTGAAGGTGGA ACTGCTGCCATGATTTTGGCCACTTTGCAGACCTGGGACTTTAGGGCTAACCAAGTTCTCT TTGTAAGGACTTGTGCCTCTTGGGAGACGTCCACCCGTTTCCAAGCCTGGGCCACTGGCA TCTCTGGAGTGTGTGGGGGTCTGGGAGGCAGGTCCCAGCCCCCTGTCTTCCCACGGCC ACTGCAGTCACCCCGTCTGCGCCGCTGTGCTGTTGTCTGCCGTGAGAGCCCAATCACTGC CTATACCCCCTCATCACACGTACAATGTCCCGAATCCCAGCCTCACCACCCCTTCTCAG TAATGACCCTGGTTGGTTGCAGGAGGTACCTACTCCATACTGAGGGTGAAATTAAGGGAA GGCAAAGTCCAGGCACAAGAGTGGGACCCAGCCTCTCACTCTCAGTTCCACTCATCCAA CTGGGACCCCTCACCACGAATCTCATGATCTGATTGGTTCCCTGTCTCCTCCTCCCGTCA CAGATGTGAGCCAGGGCACTGCTCAGCTGTGACCCTAGGTGTTTCTGCCTTGTGACATG GAGAGAGCCCTTCCCCCTGAGAAGGCCTGGCCCCCTTCCTGTGCTGAGCCACAGCAGCAG GCTGGGTGTCTTGGTTGTGAGTGGTGGCACCAGGATGGAAGGGCAAGGCACCCAGGGCAG GCCACAGTCCCGCTGTCCCCCACTTGACCCCTAGCTTGTAGCTGCCAACCTCCCAGACA

	GCCCAGCCCGCTGCTCAGCTCCACATGCATAGTATCAGCCCTCCACACCCGACAAAGGGG AACACACCCCTTGAAATGGTTCTTTTCCCCCAGTCCCAGCTGGAAGCCATGCTGTCTG TTCTGCTGGAGCAGCTGAACATATACATAGATGTTGCCCTGCCCTCCCATCTGCACCCT GTTGAGTTGTAGTTGGATTTGTCTGTTTATGCTTGGATTACACAGAGTGACTATGATAGT GAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGACGCATGTATCTTGAAATGCTTGTAAGAGGTTT CTAACCCACCCTCACGAGGTGTCTCTCACCCTCAGCTGGGACTCGTGTGGCCTGTGTGG TGCCACCCTGCTGGGGCCTCCCAAGTTTTGAAAGGCTTTCCTCAGCACCTGGGACCCAAC AGAGACCAGCTTCTAGCAGCTAAGGAGGCCGTTAGCTGTGACGAAGGCCTGAAGCACAG GATTAGGACTGAAGCGATGATGTCCCCTTCCCTACTTCCCCTTGGGGCTCCCTGTGTGTCAG GGCACAGACTAGGTCTTGTGGCTGGTCTGGCTTGCGGCGCGAGGATGGTTCTCTCTGGTC ATAGCCCGAAGTCTCATGGCAGTCCCAAAGGAGGCTTACAACCTCTGCATCACAAGAAAA AGGAAGCCACTGCCAGCTGGGGGGATCTGCAGCTCCCAGAAGCTCCGTGAGCCTCAGCCA CCCCTCAGACTGGGTTCTCTCCAAGCTCGCCCTCTGGAGGGGCAGCGCAGCCTCCACC AAGGGCCCTGCGACCACAGCAGGGATTGGGATGAATTGCCTGTCTGGATCTGCTCTAGA GGCCCAAGCTGCCTGCCTGAGGAAGGATGACTTGACAAGTCAGGAGACACTGTTCCCAAA GCCTTGACCAGAGCACCTCAGCCCGCTGACCTTGACAAAACCTCCATCTGCTGCCATGAGA AAAGGGAAGCCGCCTTTGCAAAACATTGCTGCCTAAAGAACTCAGCAGCCTCAGGCCCA ATTCTGCCACTTCTGGTTTGGGTACAGTTAAAGGCAACCCTGAGGGACTTGGCAGTAGAA ATCCAGGGCCTCCCCTGGGGCTGGCAGCTTCGTGTGCAGCTAGAGCTTTACCTGAAAGGA AGTCTCTGGGCCCAGAACTCTCCACCAAGAGCCTCCCTGCCGTTCGCTGAGTCCCAGCAA TTCTCCTAAGTTGAAGGGATCTGAGAAGGAGAAGGAAATGTGGGGTAGATTTGGTGGTGG TTAGAGATATGCCCCCTCATTACTGCCAACAGTTTCGGCTGCATTTCTTCACGCACCTC GGTTCTCTTCTGAAGTTCTTGTGCCCTGCTCTTCAGCACCATGGGCCTTCTTATACGG AAGGCTCTGGGATCTCCCCCTTGTGGGGCAGGCTCTTGGGGCCAGCCTAAGATCATGGTT TAGGGTGATCAGTGCTGGCAGATAAATTGAAAAGGCACGCTGGCTTGTGATCTTAAATGA GGACAATCCCCCAGGGCTGGGCACTCCTCCCCTCCCCTCACTTCTCCCACCTGCAGAGC CAGTGTCTTGGGTGGGCTAGATAGGATATACTGTATGCCGGCTCCTTCAAGCTGCTGAC TCACTTTATCAATAGTTCCATTTAAATTGACTTCAGTGGTGAGACTGTATCCTGTTTGCT ATTGCTTGTGTGCTATGGGGGGAGGGGGGAGGAATGTGTAAGATAGTTAACATGGGCAA AGGGAGATCTTGGGTGCAGCACTTAAACTGCCTCGTAACCCTTTTCATGATTTCAACCA CATTGCTAGAGGGAGGGAGCAGCCACGGAGTTAGAGGCCCTTGGGGTTTCTCTTTTCCA CTGACAGGCTTTCCCAGGCAGCTGGCTAGTTCACTCCCTCCCCAGCCAGGTGCAGGCGTA GGAATATGGACATCTGGTTGCTTTGGCCTGCTGCCCTCTTTCAGGGGTCTTAAGCCCACA ATCATGCCTCCCTAAGACCTTGGCATCCTTCCCTCTAAGCCGTTGGCACCTCTGTGCCAC CTCTCACACTGGCTCCAGACACACAGCCTGTGCTTTTGGAGCTGAGATCACTCGCTTCAC CCTCTCATCTTTGTTCTCCAAGTAAAGCCACGAGGTGCGGGCGAGGGCAGAGGTGATCA CCTGCGTGTCCCATCTACAGACCTGCAGCTTCATAAAACTTCTGATTTCTCTCAGCTTT GAAAAGGGTTACCCTGGGCACTGGCCTAGAGCCTCACCTCCTAATAGACTTAGCCCCATG AGTTTGCCATGTTGAGCAGGACTATTTCTGGCACTTGCAAGTCCCATGATTTCTTCGGTA ATTTCTAGGGTGGGGGGAGGGACATGAAATCATCTTAGCTTAGCTTTCTGTCTGTGAATG TCTATATAGTGTATTGTGTGTTTAAACAAATGATTTACACTGACTGTTGCTGTAAAAGTG AATTGGAAATAAAGTTATTACTCTGATTAAA
161	MAEPRQEFVMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAE EAGIGDTPSLEDEA AGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKAKAGADGKTKIATPRGAAPPGQKGQANATRIPAKTPPA PKTPSSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSS AKSRLQTAPVMPDLKNVSKIGSTENLKHQPGGKVQIVYKPVDSLKVTSKCGSLGNIH HKPGGGQVEVKSEKLDKDRVQSKIGSLDNITHVPGGNGKKIETHKLTFRENAKAKTDHG AEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNVSS TGSIDMVDSPLATLADEVSSASLAKQGL
162	FEDLY
163	LFGNMEEGDCPSDWKTDSTCR
164	AGKIT

165	VEKLTLTD
166	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDKWGQGTLVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQF NWKYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
167	ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWKYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLG