

## **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, 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.

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:

- 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 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 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 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, 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, 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<sub>bc</sub>) 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<sub>bc</sub>) 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

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<sub>bc</sub>) 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<sub>bc</sub>) 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)<sub>n</sub>-P, en  
donde R es un ARN bicatenario (ARN<sub>bc</sub>) 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;

(b) la VH comprende una secuencia que tiene al  
25 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<sub>bc</sub>) 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<sub>bc</sub> comprende una  
cadena no codificante complementaria a un ARN<sub>m</sub> 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 ARN<sub>bc</sub> que se dirigen al ARN<sub>m</sub> de MAPT humano.  
En algunas modalidades, la cadena codificante y la cadena  
no codificante de ARN<sub>bc</sub> 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<sub>bc</sub> 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, meningioangiomas, 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, meningioangiomas, 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  $\alpha$  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  $\alpha$  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.

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<br>(sec. con núm. de ident.: 1) | SISRSSSYIYYADSVKG<br>(sec. con núm. de ident.: 2) | EHGYSNSDAFDI<br>(sec. con núm. de ident.: 3) |

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

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

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

|                              |                                                                                                                         |                                          |                                                                                       |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| TBD5                         | RSSQSLLDSDDGSTYLD<br>(sec. con núm. de ident.: 16)                                                                      | LLSNRAS<br>(sec. con núm. de ident.: 17) | MQRIEFPLT<br>(sec. con núm. de ident.: 18)                                            |
| TBD6                         | RSSQSLLDSDDGSTYLD<br>(sec. con núm. de ident.: 16)                                                                      | LLSNRAS<br>(sec. con núm. de ident.: 17) | MQRIEFPLT<br>(sec. con núm. de ident.: 18)                                            |
| TBD7                         | RSSQSLLDSDDGSTYLD<br>(sec. con núm. de ident.: 16)                                                                      | LLSNRAS<br>(sec. con núm. de ident.: 17) | MQRIEFPLT<br>(sec. con núm. de ident.: 18)                                            |
| TBD8<br>(consenso de TBD1-4) | RASQGIS $X_{aa1}YL X_{aa2}$ , en<br>donde $X_{aa1} = N$ o $H$ ;<br>$X_{aa2} = A$ o $V$<br>(sec. con núm. de ident.: 23) | AASSLQS<br>(sec. con núm. de ident.: 5)  | LQHNSYP $X_{aa1}T$ , en<br>donde $X_{aa1} = R$ o $W$<br>(sec. con núm. de ident.: 24) |
| TBD9<br>(consenso de TBD5-7) | RSSQSLLDSDDGSTYLD<br>(sec. con núm. de ident.: 16)                                                                      | LLSNRAS<br>(sec. con núm. de ident.: 17) | MQRIEFPLT<br>(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<br>FTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSIS<br>RSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNS<br>LYLQMNSLRAEDTAVYYCAREHGYSN<br>SDAFDIWGQGTLLVTVSS<br>(sec. con núm. de ident.: 27) | DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRAS<br>QGISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAAS<br>SLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL<br>QPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKV<br>EIK<br>(sec. con núm. de ident.: 28) |
| TBD2                                | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASG<br>FTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSIS<br>RSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNS<br>LYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSN<br>SDAFDKWGQGTLLVTVSS<br>(sec. con núm. de ident.: 29) | DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRAS<br>QGISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAAS<br>SLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL<br>QPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKV<br>EIK<br>(sec. con núm. de ident.: 28) |
| TBD3                                | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASG<br>FTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSIS<br>RSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNS<br>LYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSN<br>SDAFDIWGQGTLLVTVSS<br>(sec. con núm. de ident.: 30) | DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRAS<br>QGISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAAS<br>SLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL<br>QPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKV<br>EIK<br>(sec. con núm. de ident.: 31) |

|      |                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                  |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TBD4 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASG<br>FTFSSYSMNWVRQAPGKLEWVSSIS<br>SSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNS<br>LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSN<br>SDAFDNWGQGLTVTVSS<br>(sec. con núm. de ident.: 32) | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRAS<br>QGISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAAS<br>SLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL<br>QPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKV<br>EIK<br>(sec. con núm. de ident.: 33)     |
| TBD5 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG<br>FTFRTYWMHWVRQAPGKLLWVSRIN<br>GDGSRTNYADSVKGRFTISRDNKKT<br>LYLQMNSLRAEDTAVYFCARSSYAFD<br>VWGQGTMTVTVSS<br>(sec. con núm. de ident.: 34)     | DVVMQTPLSLPVTPGEPASISCRSS<br>QSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQL<br>LIYLLSNRASGVPDFRSGSGSGTVFT<br>LKISSVEAADVGVIYCMQRIEFPLTF<br>GGGTKVEIK<br>(sec. con núm. de ident.: 35) |
| TBD6 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG<br>FTFRTYWMHWVRQAPGKLVWVSRIN<br>SDGSRTNYADSVKGRFTISRDNKNT<br>LYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFD<br>VWGQGLTVTVSS<br>(sec. con núm. de ident.: 36)      | DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSS<br>QSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQL<br>LIYLLSNRASGVPDFRSGSGSGTDF<br>LKISRVEAEDVGVYCMQRIEFPLTF<br>GGGTKVEIK<br>(sec. con núm. de ident.: 37)  |
| TBD7 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG<br>FTFRTYWMHWVRQAPGKLVWVSRIN<br>SDGSRTNYADSVKGRFTISRDNKNT<br>LYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFH<br>VWGQGLTVTVSS<br>(sec. con núm. de ident.: 38)      | DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSS<br>QSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQL<br>LIYLLSNRASGVPDFRSGSGSGTDF<br>LKISRVEAEDVGVYCMQRIEFPLTF<br>GGGTKVEIK<br>(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  
5 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.  
10 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  
15 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  
20 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  
25 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;
- 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, 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)<sub>4</sub> (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. |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| <b>CDR1 (KABAT)</b>          | ETAVA                                                                                                                                      | 39                      |
| <b>CDR2 (KABAT)</b>          | GIGGGVDITYYADSVKG                                                                                                                          | 40                      |
| <b>CDR3 (KABAT)</b>          | RPGRPLITSKVADLPY                                                                                                                           | 41                      |
| <b>VHH de larga duración</b> | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRYIDETAVAWFRQA<br>PGKGREFVAGIGGGVDITYYADSVKGRFTISRDNKNTLY<br>LQMNSLRPEDTAVYYCGARPGRPLITSKVADLPYWGQGT<br>LVTVSSPP | 42                      |
| <b>Enlazador opcional</b>    | 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<br>número de<br>ident. |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| <b>HCDR1 (KABAT)</b>             | SYAIE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 43                              |
| <b>HCDR2 (KABAT)</b>             | GILPGSGTINYNEKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 44                              |
| <b>HCDR3 (KABAT)</b>             | MSSNSDQGFDL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 45                              |
| <b>LCDR1 (KABAT)</b>             | KASQGISRFLS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 46                              |
| <b>LCDR2 (KABAT)</b>             | AVSSLVD                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 47                              |
| <b>LCDR3 (KABAT)</b>             | VQYNSYPYG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 48                              |
| <b>VH</b>                        | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYAIEWVRQAP<br>GQGLEWMGGILPGSGTINYNEKFKGRVTITADKSTSTAYME<br>LSSLRSED TAVYYCARMSSNSDQGFDLWGQGT LVT VSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 49                              |
| <b>VL</b>                        | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQGISRFLSWFQQKP<br>GKAPKSLIYAVSSLVDGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPE<br>EDFATYYCVQYNSYPYGFGGGKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 50                              |
| <b>HC (hIgG4PAA)</b>             | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYAIEWVRQAP<br>GQGLEWMGGILPGSGTINYNEKFKGRVTITADKSTSTAYME<br>LSSLRSED TAVYYCARMSSNSDQGFDLWGQGT LVT VSSAST<br>KGPXVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSG<br>ALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNV<br>DHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK<br>PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA<br>KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL<br>PSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV<br>KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKL<br>TVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGL, en<br>donde X es S o C. | 51                              |
| <b>LC<br/>(kappa<br/>humana)</b> | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQGISRFLSWFQQKPG<br>KAPKSLIYAVSSLVDGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPED<br>FATYYCVQYNSYPYGFGGGKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDE<br>QLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT<br>EQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV<br>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<br>(TBD1 Fab-hIgG4PAA Fc)       | EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCVASGFT<br>FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSS<br>YIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMN<br>SLRAEDTAVYYCAREHGYSNSDAFDIWG<br>QGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS<br>ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT<br>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS<br>LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG<br>PPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL<br>MISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYV<br>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT<br>VLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKT<br>ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV<br>SLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br>KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE<br>GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG<br><br>(sec. con núm. de ident.: 53)                                  | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQG<br>ISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQS<br>GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFA<br>TYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAA<br>PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY<br>PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br>KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV<br>THQGLSSPVTKSFNRGEC<br><br>(sec. con núm. de ident.: 54) |
| TBP2<br>(TBD2 Fab-hIgG4PAA Fc)       | EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCVASGF<br>TFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISR<br>SSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYL<br>QMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAF<br>DKWGGQGTILVTVSSASTKGXVFPLAPC<br>SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW<br>NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV<br>VTVPPSSSLGKTKTYTCNVDHKPSNTKVD<br>KRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFL<br>FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQE<br>DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF<br>NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKV<br>SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY<br>TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDI<br>AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF<br>FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEAL<br>LHNHYTQKSLSLGLG, en donde X<br>es S o C.<br><br>(sec. con núm. de ident.: 55) | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQG<br>ISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQS<br>GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFA<br>TYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAA<br>PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY<br>PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br>KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV<br>THQGLSSPVTKSFNRGEC<br><br>(sec. con núm. de ident.: 54) |
| TBP3<br>(TBD3 Fab-hIgG4PAA Fc)       | EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCVASGFT<br>FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSS<br>YIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMN<br>SLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDIWG<br>QGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS<br>ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT<br>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQG<br>ISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQS<br>GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFA<br>TYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAA<br>PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY<br>PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS                                                                                           |

|                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                 | <p>LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG<br/>PPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL<br/>MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV<br/>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT<br/>VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT<br/>ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV<br/>SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY<br/>KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE<br/>GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG<br/>(sec. con núm. de ident.: 56)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                     | <p>KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV<br/>THQGLSSPVTKSFNREGC<br/>(sec. con núm. de ident.: 57)</p>                                                                                                                                                                                                           |
| <p>TBP4<br/>(TBD4 Fab-<br/>hIgG4PAA<br/>Fc)</p> | <p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGF<br/>TFSSYSMNWVRQAPGKLEWVSSISS<br/>SSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL<br/>QMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAF<br/>DNWGQGTLLTVVSSASTKGXVFPLAPC<br/>SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW<br/>NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV<br/>VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVD<br/>KRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFL<br/>FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED<br/>PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF<br/>NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV<br/>SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY<br/>TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD<br/>IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF<br/>FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA<br/>LHNHYTQKSLSLGLG, en donde X<br/>es S o C.<br/>(sec. con núm. de ident.: 58)</p> | <p>DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQG<br/>ISHYLVWFQKPGKVPKRLIYAASSLQS<br/>GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA<br/>TYYCLQHNSYPWTFGQGTKEIKRTVAA<br/>PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY<br/>PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br/>KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV<br/>THQGLSSPVTKSFNREGC<br/>(sec. con núm. de ident.: 59)</p>       |
| <p>TBP5<br/>(TBD5 Fab-<br/>hIgG4PAA<br/>Fc)</p> | <p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT<br/>FRTYWMHWVRQAPGKGLLWVSRINGDGS<br/>RTNYADSVKGRFTISRDNAKTLYLQMN<br/>SLRAEDTAVYYCARSSYAFDVWGQGTMLV<br/>TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA<br/>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT<br/>FPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKT<br/>YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP<br/>CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT<br/>PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV<br/>HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD<br/>WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK<br/>GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL<br/>VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP<br/>VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS<br/>CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG<br/>(sec. con núm. de ident.: 60)</p>                                     | <p>DVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL<br/>LSDDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLS<br/>NRASGVDPDRFSGSGSGTVFTLKISSVEAA<br/>DVGYYCMQRIEFPLTFGGGTKEIKRTV<br/>AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF<br/>YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br/>KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT<br/>HQLSSPVTKSFNREGC<br/>(sec. con núm. de ident.: 61)</p>  |
| <p>TBP6<br/>(TBD6 Fab-<br/>hIgG4PAA<br/>Fc)</p> | <p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT<br/>FRTYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINDGS<br/>RTNYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMN<br/>SLRAEDTAVYYCARSSYAFDVWGQGTMLV<br/>TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA<br/>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT<br/>FPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKT<br/>YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP<br/>CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT<br/>PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV<br/>HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD<br/>WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK<br/>GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL<br/>VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP<br/>VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS<br/>CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG</p>                                                                       | <p>DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL<br/>LSDDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLS<br/>NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE<br/>DVGYYCMQRIEFPLTFGGGTKEIKRTV<br/>AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF<br/>YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br/>KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT<br/>HQLSSPVTKSFNREGC<br/>(sec. con núm. de ident.: 63)</p> |

|                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                | (sec. con núm. de ident.: 62)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| TBP7<br>(TBD7 Fab-hIgG4PAA Fc) | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT<br>FRITYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGS<br>RTNYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMN<br>SLRAEDTAVYYCARSSYAFHVWGQGTLLV<br>TVSSASTKGXVFPLAPCSRSTSESTAA<br>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT<br>FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKT<br>YTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPCCPP<br>CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT<br>PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV<br>HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTHQD<br>WLNKGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAK<br>GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL<br>VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP<br>VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS<br>CSVMHEALHNHYTQKSLSLGL, en<br>donde X es S o C.<br>(sec. con núm. de ident.: 64) | DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL<br>LSDDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLS<br>NRASGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAE<br>DVGVIYCMQRIEFPLTFGGGTKEIKRTV<br>AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF<br>YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS<br>KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT<br>HQGLSSPVTKSFNRGEC<br>(sec. con núm. de ident.: 63) |
| TBP8<br>(TBD4 Fab)             | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFT<br>FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSS<br>YIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN<br>SLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWG<br>QGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS<br>GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT<br>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS<br>LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKC<br>(sec. con núm. de ident.: 65)                                                                                                                                                                                                                                                                                   | DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGI<br>SHYLVWFQKPGKVPKRLIYAASSLQSGV<br>PSRFGSGSGSTEFTLTISLQPEDFATYY<br>CLQHNSYPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVF<br>IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK<br>VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS<br>LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS<br>PVTKSFNRGEC<br>(sec. con núm. de ident.: 59)        |
| TBP9<br>(TBD4 Fab-VHH)         | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFT<br>FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSS<br>YIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMN<br>SLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWG<br>QGTLLVTVSSASTKGPCVFPLAPSSKSTS<br>GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT<br>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS<br>LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKC<br>KTHTGGGGQGGGGQGGGGQGGGGQGGGG<br>QEVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGR<br>YIDETAVAWFRQAPGKGREFVAGIGGGV<br>DITYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMN<br>NSLRPEDTAVYYCGARPGRPLITSKVAD<br>LYPYWGQGTLLTVSSPP<br>(sec. con núm. de ident.: 66)                                                                                             | DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGI<br>SHYLVWFQKPGKVPKRLIYAASSLQSGV<br>PSRFGSGSGSTEFTLTISLQPEDFATYY<br>CLQHNSYPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVF<br>IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK<br>VQWKVDNALQCGNSQESVTEQDSKDSTYS<br>LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS<br>PVTKSFNRGEC<br>(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<br>(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<br>(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<br>(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<br>(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<br>(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 HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVSTLPPSQEEMTKNQVSLMCLVYGFPYPSDICEVESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSVLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG |                             |                              |                             |
| Sec. con núm. de ident.: 69                   | ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQGDMTKNQVQLTCLVKGFPYPSDI CVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLASRLTVDKSRWQEGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSLG                                                                                                                                                                                                                              |                             |                              |                             |

|                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sec. con núm.<br>de ident.: 138                                                       | EVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSY<br>IYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGQG<br>TLVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV<br>HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP<br>PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV<br>HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG<br>QPREPQVSTLPPSQEEMTKNQVSLMCLVYGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>LDSGDSFFLYSVLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG |
| Sec. con núm.<br>de ident.: 139                                                       | ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP<br>EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV<br>SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQGDMTKNQVQLTCLVKGFPYPSDI<br>AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLASRLTVDKSRWQEGNVFSCSVME<br>ALHNHYTQKSLSLSLG                                                                                                                                                                                                                                         |
| Sec. con núm.<br>de ident.: 166                                                       | EVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSY<br>IYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDKWGQG<br>TLVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV<br>HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP<br>PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV<br>HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG<br>QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>LDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG |
| Sec. con núm.<br>de ident.: 167                                                       | ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF<br>NWXVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI<br>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPE<br>NNTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG                                                                                                                                                                                                                                               |
| *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 5 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 10 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 15 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., 20 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 25 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) | QGTTFSSGWSWA                                                                                                                        | 76                      |
| VH            | QSLEESGGDLVKPEGSLTLTCTASGFSFSGSYWICWVRQAP<br>GKGLEWIGCIYSTSGGRITYYASWVKGRFTISKTSSTVTTLQ<br>MTSLTAADTATYFCARGDDSDISDAYFDLWGPGLTVTVSS | 77                      |
| VL            | ALDMTQTASPVSAAVGGTVTINCQSSQSVYNNRLAWYQQ<br>KPGQPPKLLIYDASTLASGVPSPRFKSGSGTQFTLTISGV<br>QSDDSATYYCQGTTFSSGWSWAFGGGTEVVVK             | 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             | QSLEESGGDLVKPEGSLTLTCTASGFSFSGSYWICWVRQAPGKGLEWIGCIYSTSGGRITYYASWVKGRFTISKTSSTVTTLQMTSLTAADTATYFCARGDDSDISDAYFDLWGPGLTVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG |                             |                             |                             |
| Sec. con núm. de ident.: 80             | ALDMTQTASPVSAAVGGTVTINCQSSQSVYNNRLAWYQQKPGQPPKLLIYDASTLASGVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQSDDSATYYCQGTYFSSGWSWAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                         |                             |                             |                             |

\*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

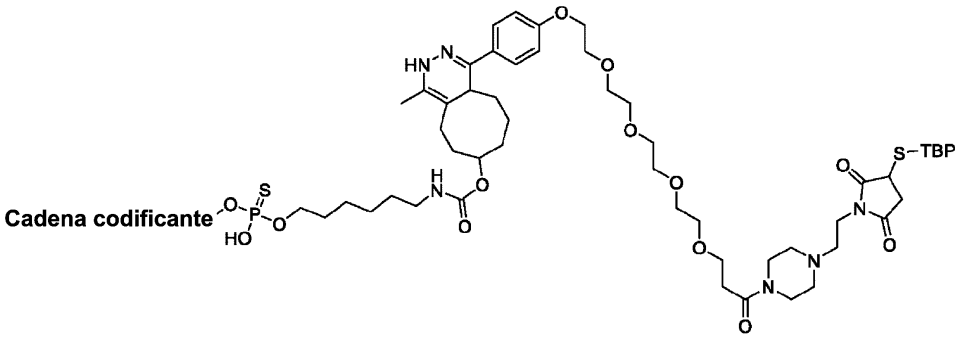
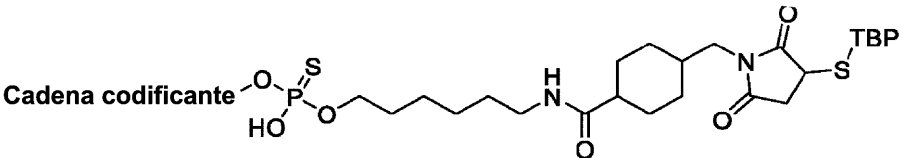
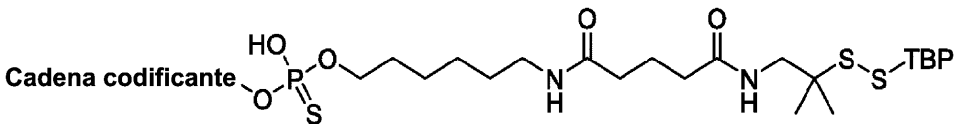
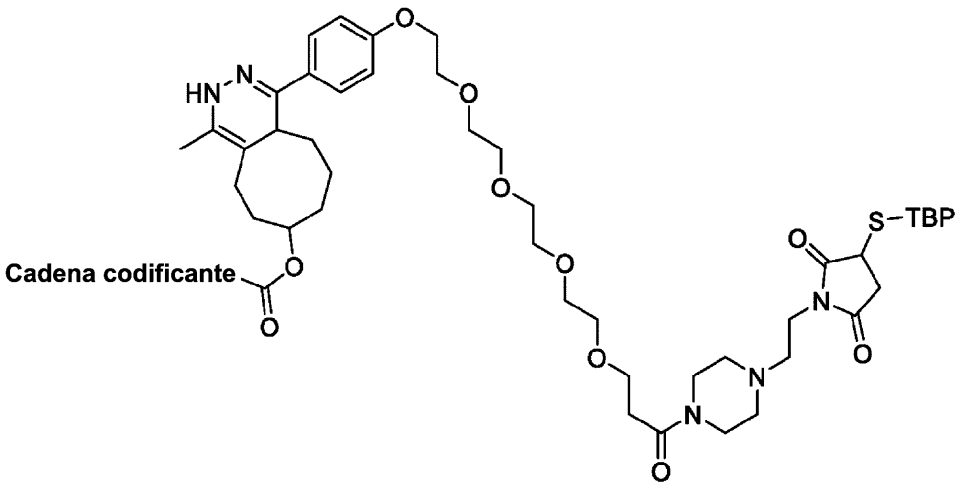
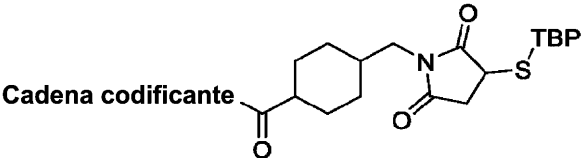
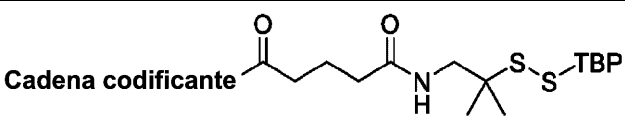
una cadena ligera (p. ej., una cadena ligera kappa) que comprende una o más cisteínas en los siguientes residuos: 156, 171, 191, 193, 202, 208 (todos los residuos de acuerdo con la numeración del índice EU). En algunas modalidades, las proteínas de unión a TfR humanos descritas en la presente comprenden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

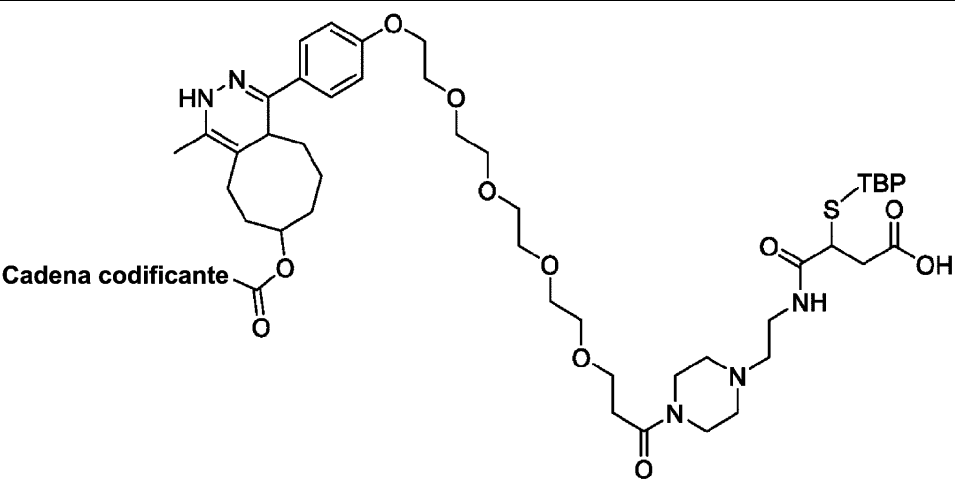
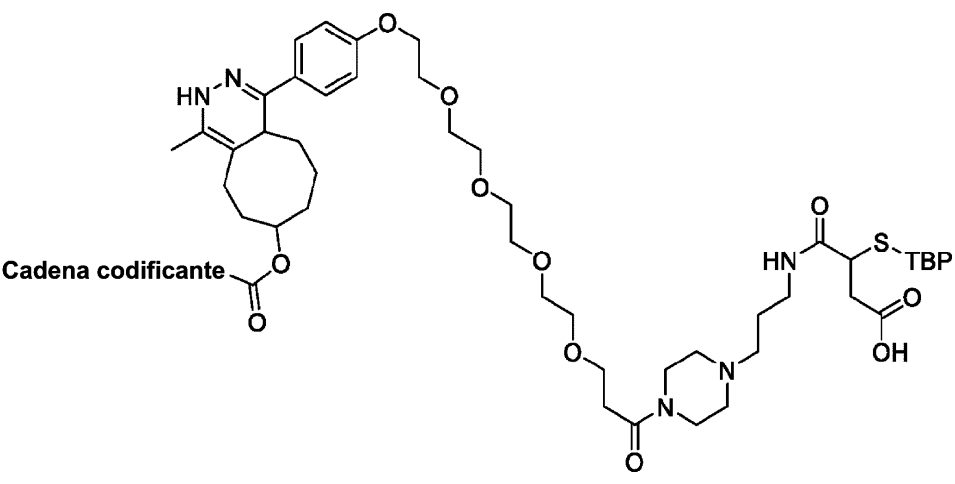
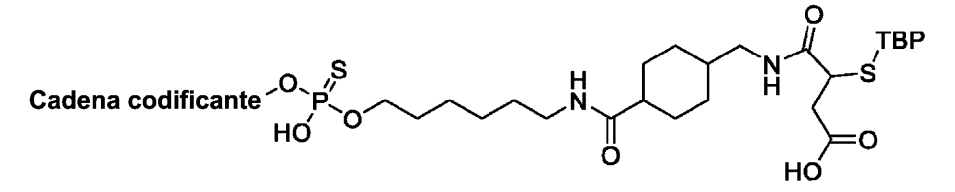
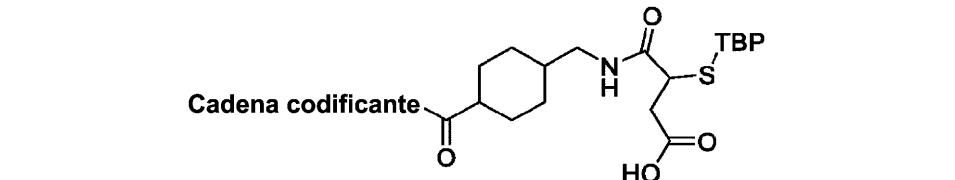
En algunas modalidades, el agente terapéutico se une a la proteína de unión a TfR humana o de ratón a través de un enlazador. En algunas modalidades, el enlazador es un enlazador de Mal-Tet-TCO, enlazador de SMCC o enlazador de GDM (las estructuras de estos enlazadores se muestran en la Tabla 8).

Tabla 8. Estructuras enlazadoras ilustrativas

| Enlazador | Estructura                 |
|-----------|----------------------------|
| 1         | Enlazador 1 de Mal-Tet-TCO |



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

|    |                                                                                                                       |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |  <p><b>Cadena codificante</b></p>   |
| 8  | Forma abierta de anillo hidrolizado del enlazador 3 de Mal-Tet-TCO                                                    |
|    |  <p><b>Cadena codificante</b></p>  |
| 9  | Forma abierta de anillo hidrolizado del enlazador 1 de SMCC                                                           |
|    |  <p><b>Cadena codificante</b></p> |
| 10 | Forma abierta de anillo hidrolizado del enlazador 2 de SMCC                                                           |
|    |  <p><b>Cadena codificante</b></p> |

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<sub>bc</sub>) 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<sub>bc</sub>) 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 (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<sub>bc</sub>) 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 (ARNbc) 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<sub>bc</sub>) 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)<sub>4</sub> (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<br>NM_000345.4 |
|---------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 1             | CUGUACAAGUGCUCAGUUC<br>CA                                       | 81                      | UGGAACUGAGCACUUGUAC<br>AGGA     | 82                      | 701                                                                                |
| 2             | UGUACAAGUGCUCAGUUC<br>AA                                        | 83                      | UUGGAACUGAGCACUUGUA<br>CAGG     | 84                      | 702                                                                                |
| 3             | GAGCAAGUGACAAAUGUUG<br>GA                                       | 85                      | UCCAACAUUUGUCACUUGC<br>UCUU     | 86                      | 408                                                                                |
| 4             | UUCCAAUGUGCCCAGUCAU<br>GA                                       | 87                      | UCAUGACUGGGCACAUUGG<br>AACU     | 88                      | 717                                                                                |
| 5             | AGUGACUACCACUUAUUUC<br>UA                                       | 89                      | UAGAAAUAAGUGGUAGUCA<br>CUUA     | 90                      | 926                                                                                |
| 6             | GUGACUACCACUUAUUUCU<br>AA                                       | 91                      | UUAGAAAUAAGUGGUAGUC<br>ACUU     | 92                      | 927                                                                                |
| 7             | CUGUACAAGnGCUCAGUUC<br>A, en donde n es una<br>entidad abásica. | 116                     | UGGAACUGAGCACUUGUAC<br>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<br>NM_001123067.4 |
|-------------------------------------------------------|------------------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 20                                                    | GUGGAAGUAAAAUCUGAG<br>AAA    | 120                     | UUUCUCAGAUUUUACUUC<br>ACCU      | 121                     | 1070                                                                                  |
| 21                                                    | CCAAGUGUGGCUCAUUAG<br>GCA    | 122                     | UGCCUAAUGAGCCACACU<br>GGAG      | 123                     | 1020                                                                                  |
| 22                                                    | UGCAAUAGUCUACAAAC<br>CAA     | 124                     | UUGGUUUUGUAGACUAAUUG<br>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;

20 (d) 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.: 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 de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de  
10 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 123; y

(c) la cadena codificante comprende una primera secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la  
15 sec. con núm. de ident.: 124 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.: 125,

20 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<sub>bc</sub> 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<sub>bc</sub>) 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<sub>bc</sub>) 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)<sub>n</sub>-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)<sub>n</sub>-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)<sub>n</sub>-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)<sub>n</sub>-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.

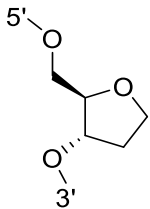
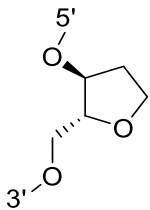
5           En algunas modalidades, la cadena codificante tiene tres nucleótidos modificados con 2'-fluoro, por ejemplo, en las posiciones 9, 10, 11 desde el extremo 5' de la cadena codificante. En algunas modalidades, los otros nucleótidos de la cadena codificante son nucleótidos  
10   modificados 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)

|             | <b>Estructura</b>                                                                  |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 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* (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* (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<sub>bc</sub> 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

C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>” 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 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 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 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 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 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](http://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')<sub>2</sub>, 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.<sup>a</sup> 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 TGTATTTCATG
    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 CTACTTATT TCTAAATCCT CACTATTTTT  
 961 TTGTTGCTGT TGTTCAGAAG 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 CCCCACTAC TATTGTAGAG  
 1501 TGGTCTATTT CTCCCTTCAA TCCTGTCAAT GTTTGCTTTA CGTATTTTGG GGAAGTGTG  
 1561 TTTGATGTGT ATGTGTTTAT AATTGTTATA CATTTTAAAT TGAGCCTTTT ATTAACATAT  
 1621 ATTGTTATTT TTGTCTCGAA ATAATTTTTT AGTTAAAATC TATTTTGTCT GATATTGGTG  
 1681 TGAATGCTGT ACCTTTCTGA CAATAAATAA TATTCGACCA TGAATAAAAA AAAAAAAAAA  
 15 1741 GTGGGTTCCC GGGAAC TAAG CAGTGTAGAA GATGATTTTG ACTACACCCT CCTTAGAGAG  
 1801 CCATAAGACA CATTAGCACA TATTAGCACA TTCAAGGCTC TGAGAGAATG TGGTTAACTT  
 1861 TGTTTAACTC AGCATTCCTC ACTTTTTTTT TTTAATCATC AGAAATTCTC TCTCTCTCTC  
 1921 TCTCTTTTTT TCTCGCTCTC TTTTTTTTTT TTTTTTTTACA GGAAATGCCT TTAAACATCG  
 1981 TTGGAAC TAC 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 AGTGA CTATA AGGATGGTTA CCATAGAAAC TTCCTTTTTT ACCTAATTGA  
 2401 AGAGAGACTA CTACAGAGTG CTAAGCTGCA TGTGTCATCT TACTAGAG AGAAATGGTA  
 2461 AGTTTCTTGT TTTATTTAAG TTATGTTTAA GCAAGGAAAG GATTTGTTAT TGAACAGTAT  
 2521 ATTT CAGGAA GGTTAGAAAG TGGCGGTTAG GATATATTTT AAATCTACCT AAAGCAGCAT  
 2581 ATTTTAAAAA TTTAAAAGTA TTGGTATTAA ATTAAGAAAT AGAGGACAGA ACTAGACTGA  
 30 2641 TAGCAGTGAC CTAGACAAT 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 AGCCCCAAC ACCCACTCC TGGTAGCTCA GACCCTCTGA TCCAACCCTC CAGCCCTGCT
1441 GTGTGCCCAG 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 TTAACAAAAA 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 CTTTGTAAAG 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 TTAEAEAGIGD 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 PTPPTREPCK 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 CAAAAACCCC 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 GGTTCGTGAT CAGGCCCTTG 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 GGGTGTGACA GAGGCAGTGG CAGCAACAAA GGATTTGAAA CTTGGTGTGT TCGTGAGGCC  
 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 GGTGTTGTTGC 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 TGTGACATG

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 TGGGTTCCTC TCCAAGCTCG CCCTCTGGAG GGGCAGCGCA GCCTCCACC  
 3841 AAGGGCCCTG CGACCACAGC AGGGATTGGG ATGAATTGCC TGTCTGGAT CTGCTCTAGA  
 3901 GGCCCAAGCT GCCTGCCTGA GGAAGGATGA CTTGACAAGT CAGGAGACAC TGTTCCTAAA  
 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 TGCTTTTGGA GCTGAGATCA CTCGCTTCAC  
 5161 CCTCCTCATC TTTGTTCTCC AAGTAAAGCC ACGAGGTCGG GGCAGGGGCA GAGGTGATCA  
 5221 CCTGCGTGTC CCATCTACAG ACCTGCAGCT TCATAAACT TCTGATTCTT 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 TTTTAACAAA TGATTTACAC TGAAGTTGC TGTAAGAGTG  
 5521 AATTTGGAAA 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 GTCATTAGG 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 TGGAAAAAAA AAGAATAATG ACCCGGCCCC CGCCCTCTGC CCCAGCTGC TCCTCGCAGT  
1321 TCGGTTAATT GGTTAATCAC TTAACCTGCT TTTGTCACTC GGCTTTGGCT CGGGACTTCA  
1381 AAATCAGTGA TGGGAGTAAG AGCAAATTTT ATCTTTCCAA ATTGATGGGT GGGCTAGTAA  
25 1441 TAAAATATTT AAAAAAAAAC ATTCAAAAAC ATGGCCACAT CCAACATTTT 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 GTGACGGGGG 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 GATTTCGGTT 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 GCCCACAGTC 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 NTKANVTCPK
61 RCGSICYGT IAVIVFFLIG FMIGYLYCK GVEPKTECER LAGTESPVRE EPGEDFPAAR
121 RLYWDDLKRR 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 FKTDIRDML SLQWLYSARG DYFRATSRLT  
661 TDFHNAEKTN RFVMREINDR IMKVEYHFLS PYVSPRESPF RHIFWGS GSH 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 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 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 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 | HHHHHCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMETEDVPTSSRLYWADLKT<br>LLSEKLNSIEFADTIKQLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIENQFHEFKF<br>SKVVRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGLDPVESPEGYVAFSKPTE<br>VSGKLVHANFGTKKDFEELSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNA<br>IGVLIYMDKNKFPVVEADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPFSQ<br>SSGLPNIPVQTISRAAAEKLFKGMEGSCPARWNIDSSCKLELSQNQNVK<br>LIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVVGQQRDALGAGVAAKSSVG<br>TGLLLKLAQVFSMDISKDGFRRSRIIFASWTAGDFGAVGATEWLEGYL<br>SSLHLKAFTYINLDKVVLTGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGK<br>SLYRDSNWISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCEADADYPYLGTR<br>LDTYEALTQKVPQLNQMVRTAAEVAGQLIIKLTHDVELNLDYEMYSKL<br>LSFMKDLNQFKTDIRDMLSLQWLYSARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTN | 113                     |

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |     |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
|               | RFVVMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRESFPRHIFWGS GSHTLSALVENL<br>KLRQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |     |
| hTfR-ECD-6His | HHHHHHCKGVPEKTECERLAGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKL<br>SEKLDSTDFGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQFREFKLSK<br>VWRDQHFVKIQVKDSAQNSV IIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYS KAATVT<br>GKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIG<br>VLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSPRSS<br>GLPNIPVQTISRAAA EKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLT<br>VSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGA AKSGVGTAL<br>LLKLAQMFSDMVLKDGFPQRSIIFASWSAGDFGSGATEWLEGYLSSL<br>HLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLY<br>QDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDT<br>YKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSF<br>VRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTDFGNAEKTDRFV<br>MKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSPKESFPRHVFWGS GSHTLPALLENLKL<br>KQNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF | 114 |
| hTfR-ApD-6His | HHHHHHHKGKPIPNPLLGLDSTGGGSDSAQNSV IIVDKNGRLVYLVEN<br>PGGYVAYS KAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITF<br>AEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGGGGGLPNI<br>PVQTISRAAA EKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 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  $\mu$ 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  $\mu$ l/min sobre todas las células; y (4) el equilibrio de superficies de chips con una inyección de 10  $\mu$ 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<br>conjugado de<br>unión a TfR<br>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<br>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  $\mu\text{M}$  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  $\mu\text{l}$  (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 ( $k_{\text{on}}$ , unidades  $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), la tasa de disociación ( $k_{\text{off}}$ , unidades  $\text{s}^{-1}$ ) y  $R_{\text{máx.}}$  (unidades RU). La constante de disociación de equilibrio ( $K_{\text{D}}$ ) 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 <sub>D</sub> de TfR humana (Biacore, nM) a 25 °C | K <sub>D</sub> 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<br>TBP14-MAPT<br>(ARNbc núm.<br>38 en la<br>Tabla 11b) | N/D    | N/D   | 764,1 | 453,3 |
| ARNip de<br>TBP14-SNCA<br>(ARNbc núm.<br>10 en la<br>Tabla 11a) | N/D    | N/D   | 298,4 | 225,3 |
| ARNip de<br>TBP15-MAPT<br>(ARNbc núm.<br>39 en la<br>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  $\mu\text{M}$  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  $\mu\text{l}$  (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 ( $k_{\text{on}}$ , unidades  $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), la tasa de disociación ( $k_{\text{off}}$ , unidades  $\text{s}^{-1}$ ) y  $R_{\text{máx.}}$  (unidades RU). La constante de disociación de  
20 equilibrio ( $K_{\text{D}}$ ) 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 <sub>D</sub> de TfR humana (Biacore, nM) a 37 °C | Error estándar de la media, K <sub>D</sub> de TfR humano (Biacore, nM) n=3 | K <sub>D</sub> de TfR de Cyno (Biacore, nM) a 37 °C | Error estándar de la media, K <sub>D</sub> 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 H<sub>2</sub>O) 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 D<sub>2</sub>O 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  $\mu\text{m}$ , filtración al vacío Steriflip® de PVDF de 0,22  $\mu\text{m}$  o liberación rápida Stericup® de PVDF de 0,22  $\mu\text{m}$ . 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  $\mu\text{m}$ , filtración al vacío Steriflip® de PVDF de 0,22  $\mu\text{m}$  o Stericup® de liberación rápida de PVDF de 0,22  $\mu\text{m}$ .

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  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , ACN al 15 %, pH 7,4 y MPB: 20 mM de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 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

| <b>Reactivos</b>                                                   |
|--------------------------------------------------------------------|
| 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

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



|                                                            |          |           |          |              |
|------------------------------------------------------------|----------|-----------|----------|--------------|
| 5'bis(POM) vinyl<br>fosfato-2'-Ome-U3'CE<br>fosforoamidita | POM-VPmU | Hongene   | PR5-032  | BVPMUP23B2A1 |
| Fosforoamidita abásica<br>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

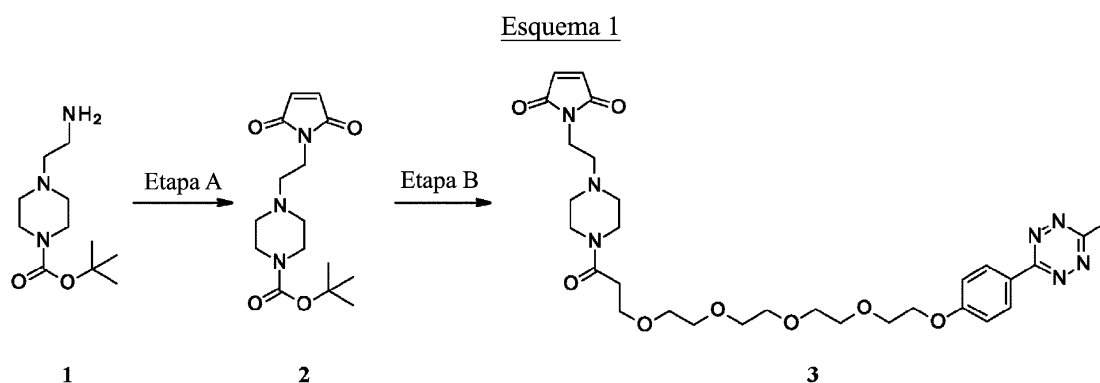
10   diclorometano; “DHAA” se refiere a ácido deshidroascórbico; “DIEA” se refiere a N,N-diisopropiletilamina; “DMF” se refiere a dimetilformamida; “ARNbc” se refiere a ácido ribonucleico bicatenario; “DTT” se refiere a ditiotreitól; “EtOAc” se refiere a acetato de etilo; “FEP” se refiere a

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 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.

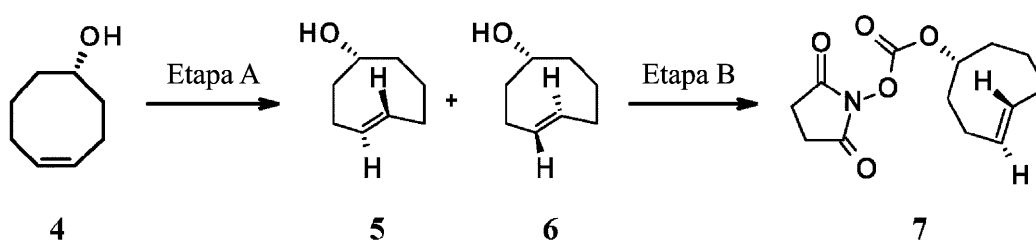
15



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

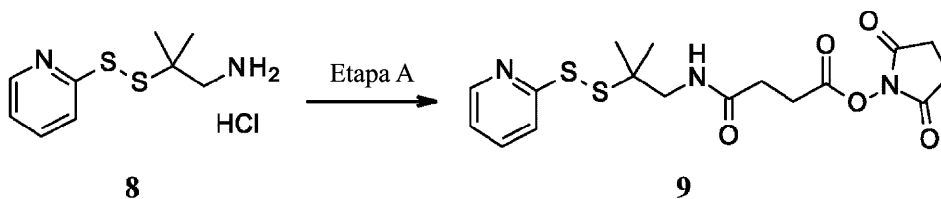
acético y acetato de sodio en un disolvente tal como el tolueno para dar el compuesto (2). La etapa B muestra la desprotección ácida del compuesto (2) con un ácido tal como TFA en un disolvente adecuado tal como DCM seguido de un  
 5 acoplamiento de amida con metiltetrazina-PEG4-ácido usando un reactivo 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



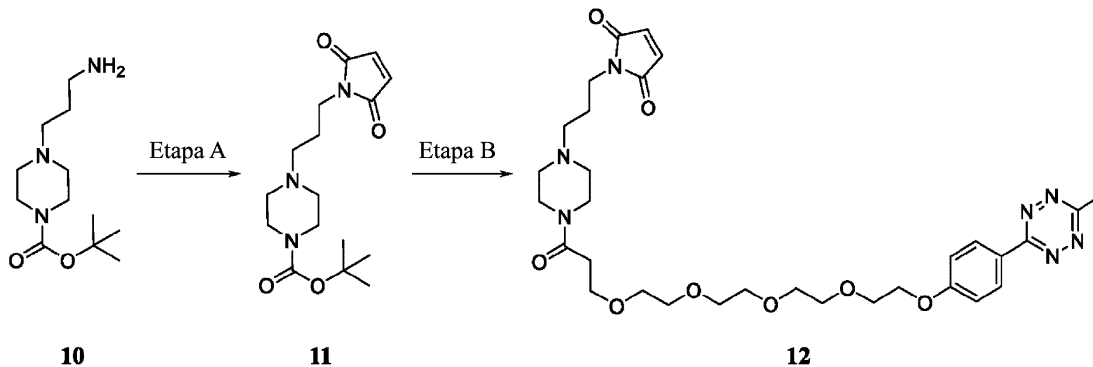
15 El esquema 2, etapa A representa la transformación de un compuesto de cis-olefina (4) a los compuestos de olefina trans (5) y (6) mediante el uso de un aparato de flujo de bucle cerrado usando irradiación y captura en una columna de nitrato de plata absorbida sobre gel de sílice. La etapa B  
 20 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

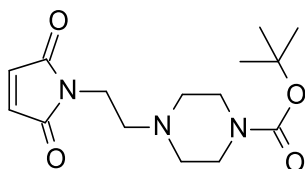


El Esquema 4, etapa A representa el acoplamiento del compuesto (10) y la furan-2,5-diona en un disolvente tal como ácido acético seguido del tratamiento con TEA en un disolvente tal como el tolueno para obtener el compuesto (11). La etapa B representa la conversión del compuesto (11) al compuesto (12)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



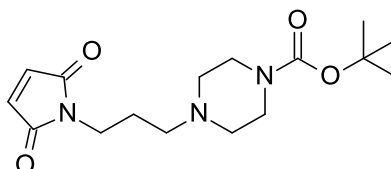
15

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



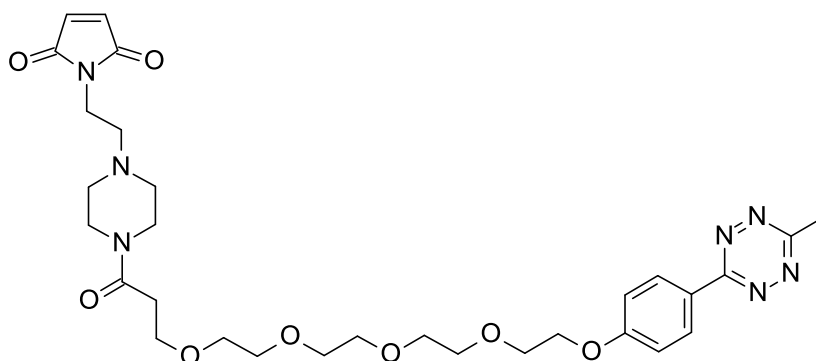
15

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).

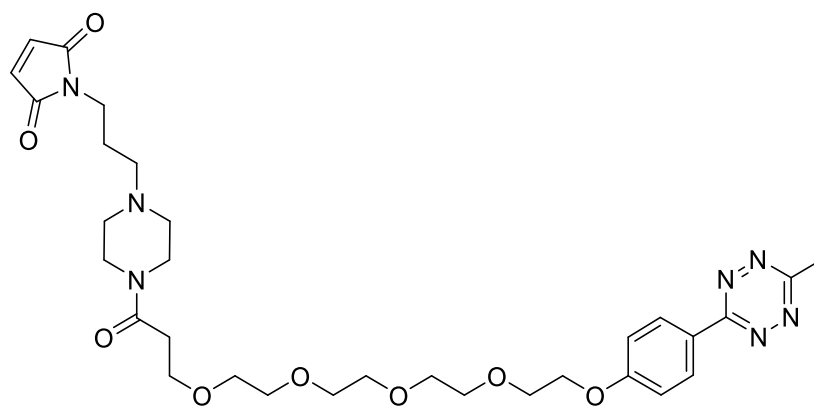
20

#### 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

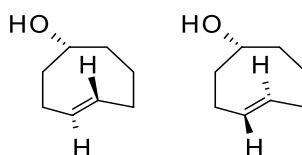




El compuesto del título se preparó usando 4-[3-(2,5-dioxopirrol-1-il)propil]piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo de una manera esencialmente análoga a los métodos encontrados en la Preparación 3. LC/MS  $m/z$  642 ( $M+H$ ).

#### 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.

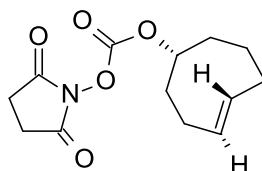
Equipo: (A) Lámpara UV (Pen-Ray 099912-1, 254 nm), fuente de alimentación 99-0055-01 Corriente de lámpara 18 mA/AC. Según la descripción del fabricante, esta lámpara produce entre 4400 y 4750 microvatios/cm<sup>2</sup> de intensidad a 0,75" para una luz de 254 nm. (B) Bomba FMI ajustada a 10 mL/min que 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 NH<sub>4</sub>OH 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 MgSO<sub>4</sub>, 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 %). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) 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 %). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 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)

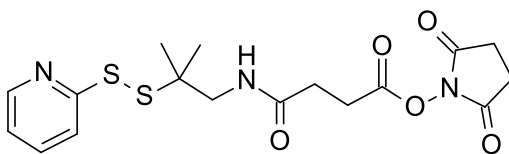


Se añadió carbonato de N,N'-disuccinimidilo (2,79 g, 10,3 mmol) en pequeñas porciones (~250-300 mg cada  
 5 adición, con cinco minutos de diferencia) a una mezcla de 1R,4E)-ciclooct-4-en-1-ol (axial) (569 mg, 4,50 mmol) y TEA (2,5 mL, 18 mmol) en ACN (25 mL). La mezcla se cubrió con papel de aluminio 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 MgSO<sub>4</sub>, 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ M y AS = 1108  $\mu$ 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  $\mu$ l adicionales de AS. Las endotoxinas se eliminaron al filtrar a través de un filtro de 0,45  $\mu$ M. Los 75 ml resultantes de solución 10 medidos (Nanodrop™ Lite, promedio de 5x, dilución de 10x) 217 OD/ml equivalen a 575  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ M y AS = 431,3  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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.

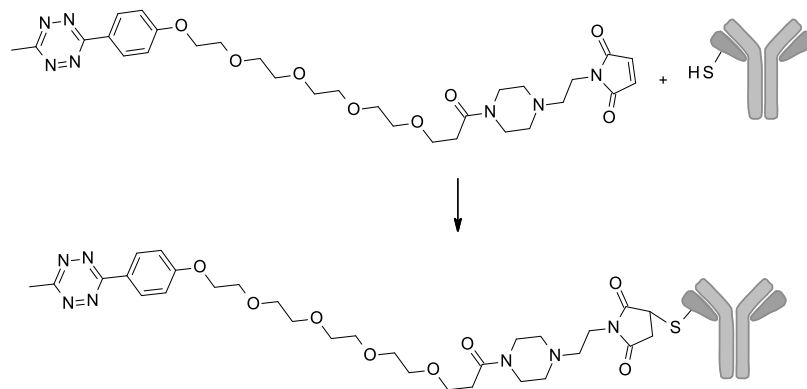
La conjugación del ARNbc en proteínas de unión a TfR se realizó usando los siguientes métodos.

5

#### Esquema 1 de conjugación

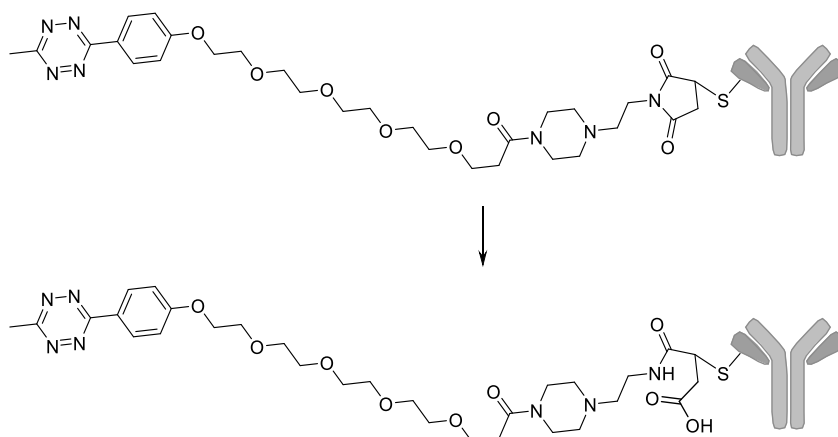
En el primer método, se conjugó un enlazador bifuncional de maleimida-metiltetrazina con la cisteína diseñada por ingeniería de las proteínas de unión a TfR a pH  
10 neutro mediante la adición del enlazador a la proteína de unión a TfR a 20 equivalentes molares e incubación a temperatura ambiente durante 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

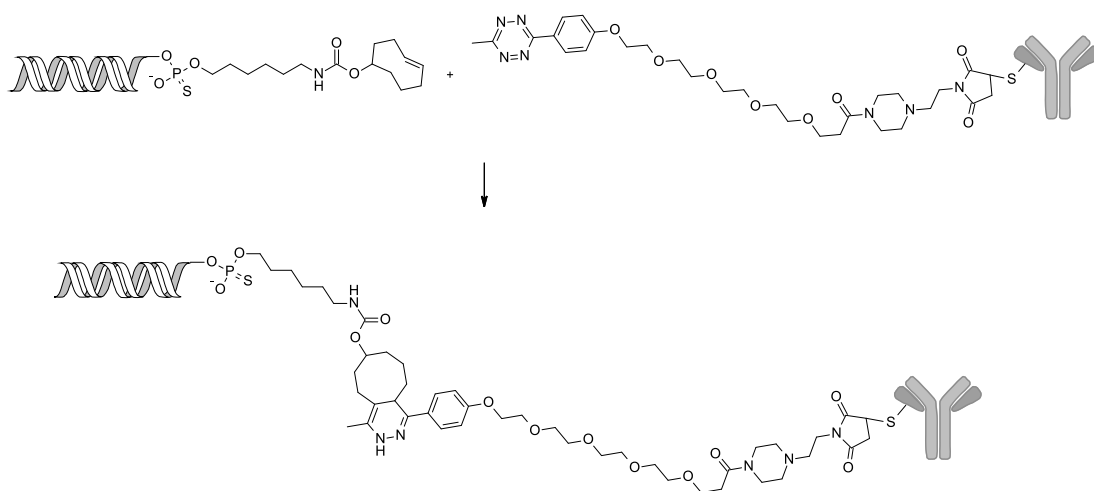


Etapa 1b: conjugación de proteína de unión a TfR con  
apertura de anillo del enlazador de maleimida-

5 metiltetrazina

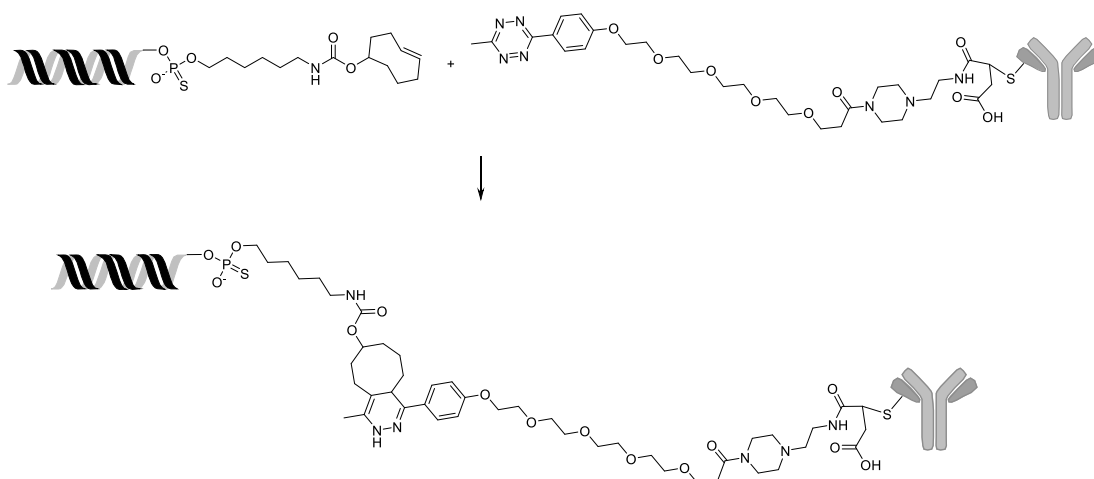


Etapa 2a: conjugación de ARNbc con intermedio proteína-  
 10 enlazador



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

5



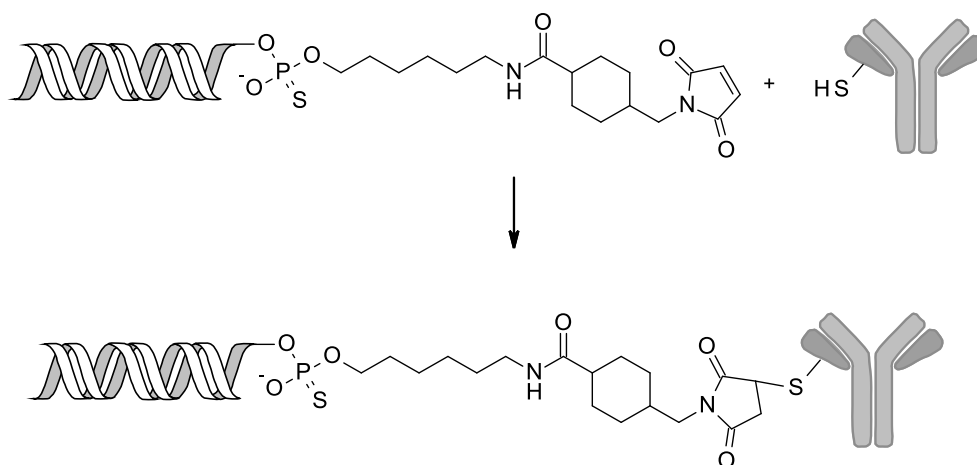
### Esquema 2 de conjugación

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.

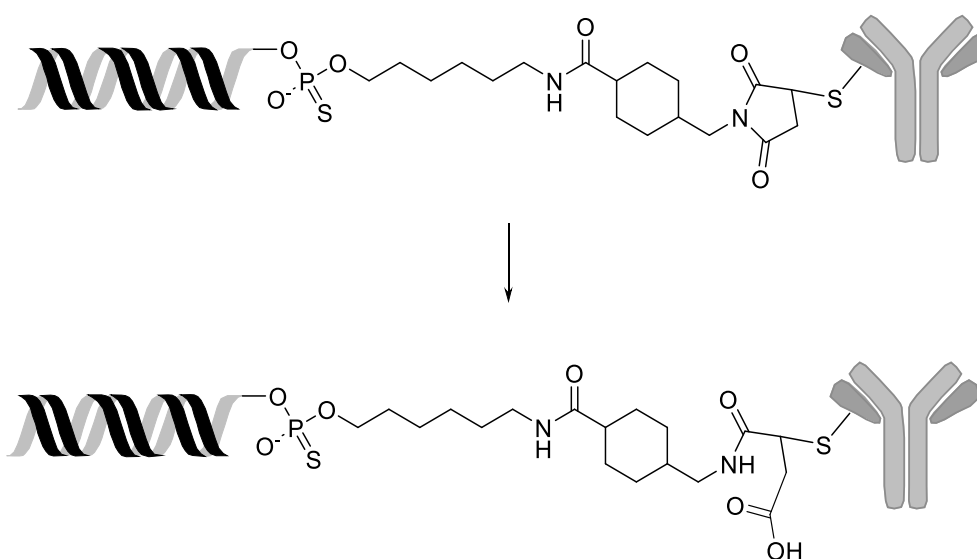
Opcionalmente, después de la conjugación, se puede realizar una etapa de hidrólisis de maleimida para asegurar la carga del enlazador en la etapa terminal y evitar la desconjugación durante la circulación del cuerpo humano mediante la adición retro-Michael. Este proceso de hidrólisis del anillo de succinimida 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

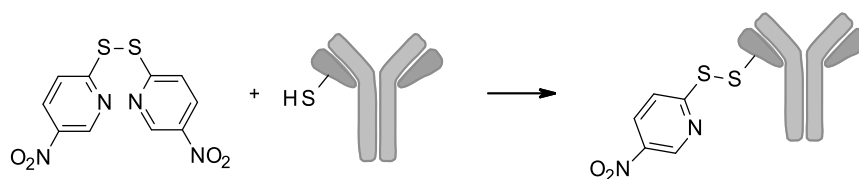


Esquema 3 de conjugación

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

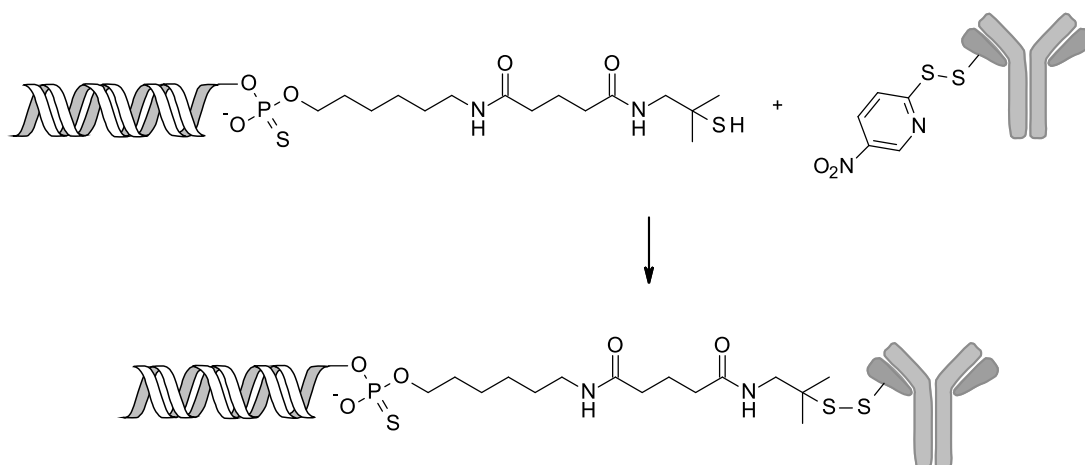
de unión a TfR se preparó similarmente a la anterior para hacer que el tiol diseñado por ingeniería estuviera disponible para la conjugación mediante el proceso de reducción y oxidación de la proteína de unión a TfR. Después, se añadió ditiobis(5-nitropiridina) como 20 equivalentes molares a la proteína 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 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 ditiobis(5-nitropiridina) para la generación del intermedio



Etapas 2: conjugación de ARNbc con ARNbc funcionalizado 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 CO<sub>2</sub>. 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 Fcγ 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  $\beta$ -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 $\gamma$  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  $\beta$ -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 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| <b>IC50 (nM)</b>                                                                                 | 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  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -actina usando las sondas respectivas (ThermoFisher) para las regiones del SNC y GAPDH para los músculos gastrocnemios (ThermoFisher).

Para determinar los niveles de proteína  $\alpha$ -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 (Spex 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  $\alpha$  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 ( $\alpha$ -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  $\alpha$ -Sin se les añadió lisado de proteínas o la proteína alfa-sinucleína humana recombinante ( $\alpha$ -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  $\alpha$ . 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  $\alpha$ -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  $\alpha$  en cada muestra se normalizó al nivel de  
25 proteína total y la expresión de proteína sinucleína  $\alpha$  restante en el grupo tratado se calculó como el porcentaje



de expresión de proteína sinucleína  $\alpha$  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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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 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 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  $\alpha$ -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 9D, una reducción significativa de la proteína  $\alpha$ -sinucleína se observó en la médula espinal lumbar (52 %), el caudado (36 %), el putamen (39 %), el hipocampo (43 %) y la corteza prefrontal (33 %). Otras regiones y tejidos cerebrales evaluados no demostraron una reducción significativa en la proteína  $\alpha$ -sinucleína como se muestra (Figura 9D).

En la Figura 9E se muestra la reducción del ARNm 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  $\beta$ -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 <sub>aa1</sub> SSSYIYYADSVKG, en donde X <sub>aa1</sub> = R o S                                             |
| 22                      | X <sub>aa1</sub> HGYSNSDAFD X <sub>aa2</sub> , en donde X <sub>aa1</sub> = E, I o R; X <sub>aa2</sub> = I, K o N |
| 23                      | RASQGIS X <sub>aa1</sub> YL X <sub>aa2</sub> , en donde X <sub>aa1</sub> = N o H; X <sub>aa2</sub> = A o V       |

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 24 | LQHNSYP $X_{aa1}T$ , en donde $X_{aa1} = R \text{ o } W$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 25 | RINX <sub>aa1</sub> DGSRTNYADSVKG, en donde $X_{aa1} = G \text{ o } S$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 26 | SSYAF $X_{aa1}V$ , en donde $X_{aa1} = D \text{ o } H$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 27 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGR<br>FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREHGYSNSDAFDIWGGQGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 28 | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS<br>GTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 29 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGR<br>FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDKWGGQGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 30 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGR<br>FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDIWGGQGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 31 | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS<br>GTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 32 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGR<br>FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGGQGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 33 | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS<br>GTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 34 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRTYWMHWVRQAPGKGLVWSRINGDGSRTNYADSVKGR<br>FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCARSSYAFDVWGGQGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 35 | DVVMQTPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLSNRASGVPDRFSGS<br>GSGTFTLTKISSVEAADVGVIYCMQRIEFPLTFGGGKTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 36 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRTYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSRTNYADSVKGR<br>FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFDVWGGQGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 37 | DIVMTQTPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLDSDDGSTYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLSNRASGVPDRFS<br>GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIYCMQRIEFPLTFGGGKTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 38 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRTYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSRTNYADSVKGRFT<br>ISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFHVWGGQGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 39 | ETAVA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 40 | GIGGGVDITYYADSVKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 41 | RPGRPLITSKVADLYPY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 42 | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRYIDETAVAWFRQAPGKGREFVAGIGGGVDITYYADSVKGRFT<br>ISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGARPGRPLITSKVADLYPYWGGQGLTVTVSSPP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 43 | SYAIE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 44 | GILPGSGTINYNEKFKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 45 | MSSNSDQGFDL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 46 | KASQGISRFLS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 47 | AVSSLVD                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 48 | VQYNSYPYG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 49 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYAIEWVRQAPGQGLEWMGGILPGSGTINYNEKFKGRVT<br>ITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMSSNSDQGFDLWGGQGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 50 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQGISRFLSWFQQKPGKAPKSLIYAVSSLVDGVPSPRFSGSGSGT<br>DFTLTISLQPEDFATYYCVQYNSYPYGFGGGKTKVEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 51 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYAIEWVRQAPGQGLEWMGGILPGSGTINYNEKFKGRVTIT<br>ADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMSSNSDQGFDLWGGQGLTVTVSSASTKGPXVFPLAPCSRSTSEST<br>AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTK<br>VDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEV<br>HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQ<br>EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCS<br>VMHEALHNHYTQKSLSLGL, en donde X es S o C. |

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 52 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQGISRFLSWFQQKPGKAPKSLIYAVSSSLVDGVPSPRFSGSGSGT<br>DFTLTISLQPEDFATYYCVQYNSYPYFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN<br>FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK<br>SFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 53 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGRFT<br>ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREHGYSNSDAFDIWGGTGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS<br>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV<br>HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQF<br>NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPR<br>EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD<br>KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG                     |
| 54 | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPKRLLIYAASSLQSGVPSPRFSGSGSGT<br>EFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN<br>FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK<br>SFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 55 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGRFTIS<br>RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDKWGGTGLVTVSSASTKGXPVFLAPCSRSTSES<br>TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV<br>HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVE<br>VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPS<br>QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC<br>SVMHEALHNHYTQKSLSLGLG, en donde X es S o C. |
| 56 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGRFT<br>ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDIWGGTGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS<br>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV<br>HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQF<br>NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPR<br>EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD<br>KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG                     |
| 57 | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISHYLVWFQQKPGKVPKRLLIYAASSLQSGVPSPRFSGSGSGT<br>EFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN<br>FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK<br>SFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 58 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGR<br>FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGGTGLVTVSSASTKGXPVFLAP<br>CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTK<br>YTCNV<br>DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG, en donde X es S o C.       |
| 59 | DIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISHYLVWFQQKPGKVPKRLLIYAASSLQSGVPSPRFSGSGSGT<br>EFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN<br>FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK<br>SFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 60 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRITYMMHWVRQAPGKGLWVSRINGDGSRTNYADSVKGRFT<br>ISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCARSSYAFDVWGGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE<br>STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNV<br>DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG                                     |
| 61 | DVVMVTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLDSDGSTYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLLSNRASGVPDRFS<br>GSGSGTVFTLKISSVEADVGVYYCMQRIEFLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV<br>VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL<br>SSPVTKSFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 62 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRITYMMHWVRQAPGKGLWVSRINSDGSRTNYADSVKGRFT<br>ISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCARSSYAFDVWGGTGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE<br>STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNV<br>DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVY                                                                                                                                     |

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 63 | DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLDSDGSTDYLDWYLQKPGQSPQLLIYLLSNRASGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEADVGVYCMQRIEFPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 64 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRTYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSRNTYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYAFHVGQGTLLTVTVSSASTKGPFVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL, en donde X es S o C. |
| 65 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGQGTLLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVPEPKC                                                                                                                                                                                                                                            |
| 66 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGQGTLLTVTVSSASTKGPCVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVPEPKCDKHTGGGGGQGGGGQGGGGQGGGGQGGGGQEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRYIDETAVAWFRQAPGKGREFVAGIGGGVDITYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCGARPGRPLITSKVADLYPYWGQGTLLTVTVSSPP                                                                             |
| 67 | DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISHYLVWFQQKPGKVPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQCGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 68 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGQGTLLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVSTLPPSQEEMTKNQVSLMCLVGYFYPSPDICVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSVLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL                |
| 69 | ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQDGMTKNQVQLTCLVKGFYPSDICVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLASRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL                                                                                                                                                                                                                                             |
| 70 | GGGGQGGGGQGGGGQGGGGQ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 71 | GSYWIC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 72 | CIYSTSGGRYYASWVKG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 73 | GDDISDAYFDL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 74 | QSSQSVYNNRLA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 75 | DASTLAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 76 | QGTFFSSGWSWA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 77 | QSLEESGGDLVKPEGSLLTCTASGFSFSGSYWICWVRQAPGKGLEWIGCIYSTSGGRYYASWVKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGDDISDAYFDLWGPGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 78 | ALDMTQTASPVSAAVGGTVTINCQSSQSVYNNRLAWYQQKPGQPPKLLIYDASTLASGVPSRFKSGSGTQFTLTISGVQSDSATYYCQGTFFSSGWSWAFGGGTEVVVK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 79 | QSLEESGGDLVKPEGSLLTCTASGFSFSGSYWICWVRQAPGKGLEWIGCIYSTSGGRYYASWVKGRFTISKTSSTTVTLQMTSLTAADTATYFCARGDDISDAYFDLWGPGLTVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL                     |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 80  | ALDMTQTASPVSAAVGGTVTINCQSSQSVYNNRLAWYQQKPGQPPKLLIYDASTLASGVPSRFKGS<br>GTQFTLTISGVQSDSATYYCQGTFFSSGWSWAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV<br>CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS<br>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<br>61 TGAGGTGCGT GCGGGCTGCA GCGCAGACCC CGGCCCGGCC CCTCCGAGAG CGTCCTGGGC<br>121 GCTCCCTCAC GCCTTGCTT CAAGCCTTCT GCCTTTCCAC CCTCGTGAGC GGAGAACTGG<br>181 GAGTGGCCAT TCGACGACAG TGTGGTGTA AGGAATTCAT TAGCCATGGA TGTATTCATG<br>241 AAAGGACTTT CAAAGGCCAA GGAGGGAGTT GTGGCTGCTG CTGAGAAAAC CAAACAGGGT<br>301 GTGGCAGAAG CAGCAGGAAA GACAAAAGAG GGTGTTCTCT ATGTAGGCTC CAAAACCAAG<br>361 GAGGGAGTGG TGCATGGTGT GGCAACAGTG GCTGAGAAGA CCAAAGAGCA AGTGACAAAT<br>421 GTTGGAGGAG CAGTGGTGAC GGGTGTGACA GCAGTAGCCC AGAAGACAGT GGAGGGAGCA<br>481 GGGAGCATTG CAGCAGCCAC TGGCTTTGTC AAAAAGGACC AGTTGGGCAA GAATGAAGAA<br>541 GGAGCCCCAC AGGAAGGAAT TCTGGAAGAT ATGCCTGTGG ATCCTGACAA TGAGGCTTAT<br>601 GAAATGCCTT CTGAGGAAGG GTATCAAGAC TACGAACCTG AAGCCTAAGA AATATCTTTG<br>661 CTCCAGTTT CTTGAGATCT GCTGACAGAT GTTCCATCCT GTACAAGTGC TCAGTTCCAA<br>721 TGTGCCAGT CATGACATTT CTCAAAGTTT TTACAGTGTA TCTCGAAGTC TTCCATCAGC<br>781 AGTGATTGAA GTATCTGTAC CTGCCCCAC TCAGCATTTT GGTGCTTCCC TTTCACTGAA |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | 841 GTGAATACAT GGTAGCAGGG TCTTTGTGTG CTGTGGATT TGTGGCTTCA ATCTACGATG<br>901 TTAAACAAA TTAAACAC CTAAGTGA CTACCTATT TCTAAATCCT CACTATTTTT<br>961 TTGTTGCTGT TGTTCAAG TTGTTAGTGA TTTGCTATCA TATATTATAA GATTTTTAGG<br>1021 TGTCTTTTAA TGATACTGTC TAAGAATAAT GACGTATTGT GAAATTTGTT AATATATATA<br>1081 ATACTTAAAA ATATGTGAGC ATGAACTAT GCACCTATAA ATACTAAATA TGAAATTTTA<br>1141 CCATTTTGCG ATGTGTTTTA TTCACTTGTG TTTGTATATA AATGGTGAGA ATTAATAATA<br>1201 AACGTTATCT CATTGCAAAA ATATTTTATT TTTATCCCAT CTCACTTTAA TAATAAAAAAT<br>1261 CATGCTTATA AGCAACATGA ATTAAGAACT GACACAAAGG AAAAAATAT AAAGTTATTA<br>1321 ATAGCCATTT GAAGAAGGAG GAATTTTAGA AGAGGTAGAG AAAATGGAAC ATTAACCCTA<br>1381 CACTCGAAT TCCCTGAAGC AACACTGCCA GAAGTGTGTT TTGGTATGCA CTGGTTCCTT<br>1441 AAGTGGCTGT GATTAATTAT TGAAAGTGGG GTGTGAAGA CCCCACTAC TATTGTAGAG<br>1501 TGGTCTATTT CTCCCTTCAA TCCTGTCAAT GTTTGCTTTA CGTATTTTGG GGAAGTGTG<br>1561 TTTGATGTGT ATGTGTTTAT AATTGTTATA CATTTTAAAT TGAGCCTTTT ATTAACATAT<br>1621 ATTGTTATTT TTGTCTCGAA ATAATTTTTT AGTTAAATC TATTTTGTCT GATATTGGTG<br>1681 TGAATGCTGT ACCTTTCTGA CAATAAATAA TATTCGACCA TGAATAAAAA AAAAAAAAAA<br>1741 GTGGGTCCC GGAACATAAG CAGTGTAGAA GATGATTTTG ACTACACCTT CCTTAGAGAG<br>1801 CCATAAGACA CATTAGCACA TATTAGCACA TTCAAGGCTC TGAGAGAATG TGGTTAAGTT<br>1861 TGTTTTAACTC AGCATTCTCT ACTTTTTTTT TTTAATCATC AGAAATCTCT TCTCTCTCTC<br>1921 TCTCTTTTTC TCTCGCTCTC TTTTTTTTTT TTTTTTTACA GGAAATGCCT TTAAACATCG<br>1981 TTGGAAGTAC CAGAGTCACC TTAAGGAGA TCAATTCTCT AGACTGATAA AAATTTTCATG<br>2041 GCCTCCTTTA AATGTTGCCA AATATATGAA TTCTAGGATT TTTCTTAGG AAAGGTTTTT<br>2101 CTCTTTCAGG GAAGATCTAT TAACTCCCA TGGGTGCTGA AAATAAACTT GATGGTGAAA<br>2161 AACTCTGTAT AAATTAATTT AAAAATTATT TGGTTCTCT TTTTAATTAT TCTGGGCGAT<br>2221 AGTCATTCT AAAAGTCACT AGTAGAAAGT ATAATTCAA GACAGAATAT TCTAGACATG<br>2281 CTAGCAGTTT ATATGTATTC ATGAGTAATG TGATATATAT TGGGCGCTGG TGAGGAAGGA<br>2341 AGGAGGAATG AGTACTATA AGGATGGTTA CCATAGAAAC TTCCTTTTTT ACCTAATTGA<br>2401 AGAGAGACTA CTACAGAGTG CTAAGCTGCA TGTGTCATCT TACACTAGAG AGAAATGGTA<br>2461 AGTTTCTTGT TTTATTTAAG TTATGTTTAA GCAAGGAAAG GATTTGTAT TGAACAGTAT<br>2521 ATTTCAGGAA GGTTAGAAAG TGGCGGTTAG GATATATTTT AAATCTACCT AAAGCAGCAT<br>2581 ATTTTAAAAA TTTAAAAGTA TTGGTATTAA ATTAAGAAAT AGAGGACAGA ACTAGACTGA<br>2641 TAGCAGTGAC CTAGAACAAT TTGAGATTAG GAAAGTTGTG ACCATGAATT TAAGGATTTA<br>2701 TGTGGATACA AATTCTCCTT TAAAGTGTTT CTTCCTTAA TATTTATCTG ACGGTAATTT<br>2761 TTGAGCAGTG AATTACTTTA TATATCTTAA TAGTTTATTT GGGACCAAC ACTTAAACAA<br>2821 AAAGTTCTTT AAGTCATATA AGCCTTTTCA GGAAGCTTGT CTCATATTCA CTCCCAGAC<br>2881 ATTCACCTGC CAAGTGGCTT GAGGATCAAT CCAGTCCTAG GTTTATTTTG CAGACTTACA<br>2941 TTCTCCAAG TTATTCAGCC TCATATGACT CCACGGTCGG CTTTACCAA ACAGTTTACA<br>3001 GTGCACTTTG GCACACAATT GGAACAGAA CAATCTAATG TGTGGTTTGG TATTCCAAGT<br>3061 GGGTCTTTT TCAGAATCTC TGCACTAGTG TGAGATGCAA ACATGTTTCC TCATCTTTCT<br>3121 GGCTTATCCA GTATGTAGCT ATTTGTGACA TAATAAATAT ATACATATAT GAAATA |
| 110 | 1 MDVFMKGLSK AKEGVVAAE KTKQGVAAE GKTKEGVLYV GSKTKEGVVH GVATVAEKT<br>61 EQVTNVGGAV VTGVTAVAQK TVEGAGSIAA ATGFVKDQL GKNEEGAPQE GILEDMPVDP<br>121 DNEAYEMPSE EGYQDYEPEA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 111 | 1 MMDQARSASF NLFGEPLSY TRFSLARQVD GDNHVMKLV AVDEEENADN NTKANVTCPK<br>61 RCGSICIGT IAVIVFFLIG FMIGYLGICK GVEPKTECER LAGTESPVRE EPGEDFPAAR<br>121 RLYWDDLKRL LSEKLDSTDF TGTIKLLNEN SYVPREAGSQ KDENLALYVE NQFREFKLSK<br>181 VWRDQHFVKI QVKDSQNSV IIVDKNGRLV YLVENPGGYV AYSKAATVGT KLVHANFGTK<br>241 KDFEDLYTPV NGSIVIVRAG KITFAEKVAN AESLNAIGVL IYMDQTKFPI VNAELSFHGH<br>301 AHLGTGDPYT PGFSPFNHTQ FPPSRSSGLP NIPVQTISRA AAEKLFNGME GDCPSDWKTD<br>361 STCRMVTSSES KNVKLTNSV LKEIKILNIF GVIKGFVEPD HYVVVGAQRD AWGPGAASKG<br>421 VGTALLKLKLA QMFSDMVLKD GFQPSRSIIF ASWSAGDFGS VGATEWLEGY LSSLHLKAFT<br>481 YINLDKAVLG TSNFKVSASP LLYTLIEKTM QNVKHPVTGQ FLYQDSNWS KVEKLTLDNA<br>541 AFPFLAYSGI PAVSFCFCED TDYPYLGTTM DTYKELIERI PELNKVARAA AEVAGQFVIK<br>601 LTHDVELNLD YERYNSQLLS FVRDLNQYRA DIKEMGLSLQ WLYSARGDFF RATSRLTTDF<br>661 GNAEKTDRFV MKKLNDVRM VEYHFLSPYV SPKESPFPHV FWGSGSHTLP ALLENLKLK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | 721 QNNGAFNETL FRNQLALATW TIQGAANALS GDVWDIDNEF                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 112 | 1 MMDQARSFAFS NLFGGEPLSY TRFSLARQVD GDNShvemKl AADeeENADn NMkASVRKPK<br>61 RFNGRLCFAA IALVIFFLIG FMSGYLGyCK RVEQKEECVK LAETEETDKS ETMETEDVPT<br>121 SSRLYWADLK TLLSEKLNSI EFADTIKQLS QNTYTPREAG SQKDESLAYY IENQFHEFKF<br>181 SKVWRDEHYV KIQVKSSIGQ NMVTIVQSNQ NLDpVESPEG YVAFskPTEV SGKLVHANFG<br>241 TKKDFEELSY SVNGSLVIVR AGEITFAEKV ANAQSFNAIG VLIYMDKNKF PVVEADLALF<br>301 GHAHLGTGDP YTPGFPSFNH TQFPSSQSSG LPNIPVQTIS RAAAEKLFgK MEGSCPARWN<br>361 IDSSCKLELS QNQNVKLIVK NVLKERRILN IFGVIKGYEE PDRYVVVGAQ RDALGAGVAA<br>421 KSSVGTGLLL KLAQVFSDMI SKDGFPRSRs IIFASWTAGD FGAVGATEWL EGYLSSLHLK<br>481 AFTYINLDKV VLGTsnFKVS ASPLLYTLMG KIMQDVkHPV DGKSLYRDSN WISKVEKLSF<br>541 DNAAYPFLAY SGIPAVSFCF CEDADYPYLG TRLDTYEALT QKVPQLNQMV RTAAEVAGQL<br>601 IIKLTHDVEL NLDYEMYNsk LLSFMKDLNq FKTDIRDMGL SLQWLYSARG DYFRATSRLT<br>661 TDFHNAEKTn RFVMREINDR IMKVEYHfLS PYVSPRESpf RHIFWGSGSH TLSALVENLK<br>721 LRQKNITAFN ETLFRNQLAL ATWTIQGVAN ALSGDIWNID NEF |
| 113 | HHHHHHCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMETEDVPTSSRLYWADLKTLSEKLNSIEFADTIKQLSQ<br>NTYTPREAGSQKDESLAYYIENQFHEFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMTIVQSNGNLDpVESPEG<br>YVAFskPTEVSGKLVHANFGTKKDFEELSYSVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMDKNK<br>FPVVEADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFgKMEGSCPAR<br>WNIDSSCKLELSQNQNVKLIVK NVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVVGAQRDALGAGVAAKSSVGTG<br>LLKLAQVFSDMISKDGFPRSRsIIFASWTAGDFGAVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKVVLGTsn<br>FKVSASPLLYTLMGKIMQDVkHPVDGKSLYRDSNWISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDAD<br>YPYLGTRLDTYEALTQKVPQLNQMVRTAAEVAGQLIIKLTHDVELNLDYEMYNskLLSFMKDLNqFKTD<br>IRDMGLSLQWLYSARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTnRFVMREINDRIMKVEYHfLSPYVSPRESpfRHI<br>FWGSGSHTLSALVENLKLRQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF                                                                                                                                                                                                                   |
| 114 | HHHHHHCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLNENSyV<br>PREAGSQKDENLALYVENQFREFKLSKVWRDQHfVKIQVKDSAQNSVIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSk<br>AATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAEL<br>SFFGHHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPSSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFgNMEGDCPSDWKTDSTCRMV<br>TSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGAAGSGVGTALLKLAQMFSdMV<br>LKDGfQPSRSIIFASWSAGDFGSGVATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTsnFKVSASPLLYTLIEK<br>TMQNVKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIER<br>IPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIEMGLSLQWLYSARGDFF<br>RATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDVRMVEYHfLSPYVSPKESPFHRVFWGSGSHTLPALLENLKLRKQ<br>NNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF                                                                                                                                                                                                                          |
| 115 | HHHHHHHHGKPIPNPLLGLDSTGGGGSdSAQNSVIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHA<br>NFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHHLG<br>GGGGGLPNIPVQTISRAAAEKLFgNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 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 | UUGGUUUUGUAGACUAUUUGCACC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 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<br>ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHGYSNSDAFDNWGQGTLTVTSSASTKGPCVFPLAPCSRS<br>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD<br>HKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQF<br>NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPR<br>EPQVSTLPPSQEEMTKNQVSLMCLVYGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSVLTVD<br>KSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 139 | ESKYGPCCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWWYVDGVEVHNAKTK<br>KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQGDMTK<br>NQVQLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLASRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEAL<br>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*mGmAmCmUfAmCfCfAfCmUmUmAmUmUmUmCmU*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 | GCAGTCACCGCCACCCACCAGCTCCGGCACCAACAGCAGCGCCGCTGCCACCGCCCACCT<br>TCTGCCGCCGCCACCACAGCCACCTTCTCCTCCTCCGCTGTCTCTCCCCTCTCGCCTC<br>TGTCGACTATCAGGTGAACCTTGAACCAGGATGGCTGAGCCCCGCCAGGAGTTGCAAGTG<br>ATGGAAGATCACGCTGGGACGTACGGGTTGGGGGACAGGAAAGATCAGGGGGGCTACACC<br>ATGCACCAAGACCAAGAGGGTGACACGGACGCTGGCCTGAAAGAATCTCCCCCTGCAGACC<br>CCCCTGAGGACGGATCTGAGGAACCGGCTCTGAAACCTCTGATGCTAAGAGCACTCCA<br>ACAGCGGAAGATGTGACAGCACCTTAGTGGATGAGGGAGCTCCCGCAAGCAGGCTGCC<br>GCGCAGCCCCACACGGAGATCCCAGAAGGAACCACAGCTGAAGAAGCAGGCATTTGGAGAC<br>ACCCCCAGCCTGGAAGACGAAGCTGCTGGTCACGTGACCCAAGAGCCTGAAAGTGGTAAG<br>GTGGTCCAGGAAGGCTTCCCTCCGAGAGCCAGGCCCCCAGGTCTGAGCCACCAGCTCATG<br>TCCGGCATGCCTGGGGCTCCCTCCTGCCTGAGGGCCCCAGAGAGGCCACACGCCAACCT<br>TCGGGGACAGGACCTGAGGACACAGAGGGCGGCCGCCACGCCCTGAGCTGCTCAAGCAC |



|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p> CAGCTTCTAGGAGACCTGCACCAGGAGGGGCCGCCGCTGAAGGGGCGAGGGGGCAAAGAG<br/> AGGCCGGGGAGCAAGGAGGAGGTGGATGAAGACCGCGACGTCGATGAGTCCTCCCCCAA<br/> GACTCCCCCTCCCAAGGCCCTCCCCAGCCCAAGATGGGCGGCCCTCCCCAGACAGCCGCC<br/> AGAGAAGCCACCAGCATCCCAGGCTTCCCAGCGAGGGTGCCATCCCCCTCCCTGTGGAT<br/> TTCTCTCCAAAGTTTCCACAGAGATCCCAGCCTCAGAGCCCGACGGGGCCAGTGTAGGG<br/> CGGGCCAAAGGGCAGGATGCCCCCTGGAGTTCACGTTTACGTGGAAATCACACCCAAC<br/> GTGCAGAAGGAGCAGGCGCACTCGGAGGAGCATTGGGAAGGGCTGCATTTCCAGGGGCC<br/> CCTGGAGAGGGGCCAGAGGCCCGGGGCCCTCTTTGGGAGAGGACACAAAAGAGGCTGAC<br/> CTTCCAGAGCCCTCTGAAAAGCAGCCTGCTGCTGCTCCGCGGGGAAGCCCGTCAGCCGG<br/> GTCCCTCAACTCAAAGCTCGCATGGTCAGTAAAAGCAAAGACGGGACTGGAAGCGATGAC<br/> AAAAAGCCAAGACATCCACACGTTCTCTGCTAAAACCTTGAAAAATAGGCCTTGCTTT<br/> AGCCCCAAACACCCCACTCTGGTAGCTCAGACCCTCTGATCCAAACCCTCCAGCCCTGCT<br/> GTGTGCCCAGAGCCACCTTCTCTCTCTAAATACGTCTCTTCTGTCACTTCCCGAACTGGC<br/> AGTTCTGGAGCAAAGGAGATGAAACTCAAGGGGGCTGATGGTAAAACGAAGATCGCCACA<br/> CCGCGGGGAGCAGCCCTCCAGGCCAGAAGGGCCAGGCCAACGCCACCAGGATTCAGCA<br/> AAAACCCCGCCCGCTCCAAAGACACCACCCAGCTCTGCGACTAAGCAAGTCCAGAGAAGA<br/> CCACCCCTGCAGGGCCAGATCTGAGAGAGGTGAACCTCCAAAATCAGGGGATCGCAGC<br/> GGCTACAGCAGCCCCGGCTCCCCAGGCACTCCCGGCAGCCGCTCCCGCACCCCGTCCCTT<br/> CCAACCCACCCACCCGGGAGCCCAAGAAGGTGGCAGTGGTCCGTACTCCACCCAAGTCG<br/> CCGTCTTCGCCAAGAGCCGCTGCAGACAGCCCCGTGCCATGCCAGACCTGAAGAAT<br/> GTCAAGTCCAAGATCGGCTCCACTGAGAACCTGAAGCACCAGCCGGGAGGCGGGAAGGTG<br/> CAGATAATTAATAAGAAGCTGGATCTTAGCAACGTCCAGTCCAAGTGTGGCTCAAAGGAT<br/> AATATCAAACACGTCCCGGGAGGCGGCAGTGTGCAAATAGTCTACAAACCAGTTGACCTG<br/> AGCAAGGTGACCTCCAAGTGTGGCTCATTAGGCAACATCCATCATAAACCAGGAGGTGGC<br/> CAGGTGGAAGTAAAATCTGAGAAGCTTGACTTCAAGGACAGAGTCCAGTCGAAGATTGGG<br/> TCCCTGGACAATATCACCCAGTCCCTGGCGGAGGAAATAAAAAGATTGAAACCCACAAG<br/> CTGACCTTCCGCGGAGAACGCCAAGGCCAAGACAGACCACGGGGCGGAGATCGTGTACAAG<br/> TCGCCAGTGGTGTCTGGGGACACGTCTCCACGGCATCTCAGCAATGTCTCCTCCACCGGC<br/> AGCATCGACATGGTAGACTCGCCCCAGCTCGCCACGCTAGCTGACGAGGTGTCTGCCTCC<br/> CTGGCCAAGCAGGGTTTGTGATCAGGCCCCTGGGGCGGTCAATAATTGTGGAGAGGAGAG<br/> AATGAGAGAGTGTGGAAGAAAAAGAAATAATGACCCGGCCCCCGCCCTCTGCCCCAGCT<br/> GCTCCTCGCAGTTCGGTTAATTGGTTAATCACTTAACCTGCTTTTGTCACTCGGCTTTGG<br/> CTCGGGACTTCAAATCAGTGATGGGAGTAAGAGCAAATTTTCATCTTTCAAATTGATGG<br/> GTGGGCTAGTAATAAAATATTTAAAAAAAACATTCAAAAACATGGCCACATCCAACATT<br/> TCCTCAGGCAATTCTTTTGTATTCTTTTTTCTTCCCCCTCCATGTAGAAGAGGAGAAGG<br/> AGAGGCTCTGAAAGCTGCTTCTGGGGGATTTCAAGGACTGGGGGTGCCAACCACCTCTG<br/> GCCCCGTGTGTGGGGGTGTCACAGAGGCAGTGGCAGCAACAAAGGATTTGAAACTTGGTGT<br/> GTTCTGTGGAGCCACAGGCAGACGATGTCAACCTTGTGTGAGTGTGACGGGGGTGGGGTG<br/> GGGCGGGAGGCCACGGGGGAGGCCAGGCAGGGGCTGGGCAGAGGGGAGAGGAAGCACAA<br/> GAAGTGGGAGTGGGAGAGGAAGCCACGTGCTGGAGAGTAGACATCCCCCTCCTTGCCGCT<br/> GGGAGAGCCAAGGCCTATGCCACCTGCAGCGTCTGAGCGGCCGCTGTCTTTGGTGGCCG<br/> GGGGTGGGGGCTGCTGTGGGTCAGTGTGCCACCCTCTGCAGGGCAGCCTGTGGGAGAAG<br/> GGACAGCGGGTAAAAAGAGAAGGCAAGCTGGCAGGAGGGTGGCACTTCGTGGATGACCTC<br/> CTTAGAAAAGACTGACCTTGATGTCTTGAGAGCGCTGGCCTCTTCTCCTCCCTCCCTGCAGG<br/> GTAGGGGGCCTGAGTTGAGGGGCTTCCCTCTGCTCCACAGAAACCCTGTTTTATTGAGTT<br/> CTGAAGGTTGGAAGTGTGTCATGATTTTGGCCACTTTGCAGACCTGGGACTTTAGGGCT<br/> AACCAGTTCTCTTTGTAAGGACTTGTGCCCTCTTGGGAGACGTCCACCCGTTTCCAAGCCT<br/> GGGCCACTGGCATCTCTGGAGTGTGTGGGGTCTGGGAGGCAGGTCCCGAGCCCCCTGTC<br/> CTTCCCACGGCCACTGCAGTCACCCCGTCTGCGCCGCTGTGCTGTGTCTGCCGTGAGAG<br/> CCCAATCACTGCCTATACCCCTCATCACAGTCACAATGTCCGAATTCCCAGCCTCACC<br/> ACCCCTTCTCAGTAATGACCCTGGTTGGTTGCAGGAGGTACCTACTCCATACTGAGGGTG<br/> AAATTAAGGGAAGGCAAAGTCCAGGCACAAGAGTGGGACCCAGCCTCTCACTCTCAGTT </p> |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | <p>CCACTCATCCAACCTGGGACCCTCACCACGAATCTCATGATCTGATTTCGGTTCCTGTCTC<br/> CTCTCCCGTCACAGATGTGAGCCAGGGCACTGCTCAGCTGTGACCCTAGGTGTTTCTGC<br/> CTTGTTGACATGGAGAGAGCCCTTTCCCTGAGAAGGCCTGGCCCTTCTGTGCTGAGC<br/> CCACAGCAGCAGGCTGGGTGTCTTGGTTGTCAGTGGTGGCACCAGGATGGAAGGGCAAGG<br/> CACCCAGGGCAGGCCACAGTCCCGCTGTCCCCACTTGCACCCTAGCTTGTAGCTGCCA<br/> ACCTCCAGACAGCCAGCCCGCTGCTCAGCTCCACATGCATAGTATCAGCCCTCCACAC<br/> CCGACAAAGGGGAACACACCCCTTGGAATGGTTCTTTCCCCAGTCCCAGCTGGAAG<br/> CCATGCTGTCTGTTCTGCTGGAGCAGCTGAACATATACATAGATGTTGCCCTGCCCTCCC<br/> CATCTGCACCCTGTTGAGTTGTAGTTGGATTTGTCTGTTTATGCTTGGATTACCCAGAGT<br/> GACTATGATAGTAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGACGCATGTATCTTGAAATGCTT<br/> GTAAAGAGGTTTCTAACCCACCCTCACGAGGTGTCTCTCACCCCCACACTGGGACTCGTG<br/> TGGCTGTGTGGTGCCACCCTGCTGGGGCCTCCCAAGTTTGAAGGCTTTCCTCAGCAC<br/> CTGGGACCCAACAGAGACCAGCTTCTAGCAGCTAAGGAGGCCGTTACAGCTGTGACGAAGG<br/> CCTGAAGCACAGGATTAGGACTGAAGCGATGATGTCCCTTCCCTACTTCCCTTGGGGC<br/> TCCCTGTGTGAGGGCACAGACTAGGTCTTGTGGCTGGTCTGGCTTGGCGCGGAGGATGG<br/> TTCTCTCTGGTCATAGCCCGAAGTCTCATGGCAGTCCCAAAGGAGGCTTACAACCTCTGC<br/> ATCACAAGAAAAAGGAAGCCACTGCCAGCTGGGGGATCTGCAGCTCCCAGAAGCTCCGT<br/> GAGCCTCAGCCACCCTCAGACTGGGTTCCTCTCCAAGCTCGCCCTCTGGAGGGCAGCG<br/> CAGCCTCCACCAAGGGCCCTGCGACCACAGCAGGGATTGGGATGAATTGCCTGTCTGG<br/> ATCTGCTCTAGAGGCCAAGCTGCCTGCCTGAGGAAGGATGACTTGACAAGTCAGGAGAC<br/> ACTGTTCCCAAAGCCTTGACCAGAGCACCTCAGCCCCTGACCTTGCACAACTCCATCT<br/> GCTGCCATGAGAAAAGGGAAGCCGCTTTGCAAAACATTGCTGCCTAAAGAACTCAGCA<br/> GCCTCAGGCCCAATTCTGCCACTTCTGGTTTGGGTACAGTTAAAGGCAACCCTGAGGGAC<br/> TTGGCAGTAGAAATCCAGGGCCTCCCCTGGGGCTGGCAGCTTCGTGTGCAGCTAGAGCTT<br/> TACCTGAAAGGAAGTCTCTGGGCCAGAACTCTCCACCAAGAGCCTCCCTGCCGTTGCT<br/> GAGTCCCAGCAATTCTCCTAAGTTGAAGGGATCTGAGAAGGAGAAGGAAATGTGGGGTAG<br/> ATTTGGTGGTGGTTAGAGATATGCCCCCTCATTACTGCCAACAGTTTCGGCTGCATTTT<br/> TTCACGCACCTCGGTTCTCTCTCTGAAGTTCTTGTGCCCTGCTCTCAGCACCATGGGC<br/> CTTCTTATACGGAAGGCTCTGGGATCTCCCCCTTGTGGGGCAGGCTCTTGGGGCCAGCCT<br/> AAGATCATGGTTTAGGGTGATCAGTGTGGCAGATAAATTGAAAAGGCACGCTGGCTTGT<br/> GATCTTAAATGAGGACAATCCCCCAGGGCTGGGCACCTCCTCCCCCTCCCCCTCACTTCTCC<br/> CACCTGCAGAGCCAGTGTCTTGGGTGGGCTAGATAGGATATACTGTATGCCGCTCCTT<br/> CAAGCTGCTGACTCACTTTATCAATAGTTCCATTTAAATTGACTTCAGTGGTGAGACTGT<br/> ATCTGTTTGTATTGCTTGTGTGCTATGGGGGGAGGGGGAGGAATGTGTAAGATAGT<br/> TAACATGGGCAAAGGGAGATCTTGGGTGCAGCACTTAACTGCCTCGTAACCCCTTTTCA<br/> TGATTTCAACCACATTTGCTAGAGGGAGGGAGCAGCCACGGAGTTAGAGGCCCTTGGGGT<br/> TTCTCTTTTCCACTGACAGGCTTTCCAGGCAGCTGGCTAGTTCATTCCCTCCCCAGCCA<br/> GGTGCAGGCGTAGGAATATGGACATCTGGTTGCTTTGGCCTGCTGCCCTCTTTCAGGGGT<br/> CCTAAGCCCACAATCATGCCTCCCTAAGACCTTGGCATCCTTCCCTCTAAGCCGTTGGCA<br/> CCTCTGTGCCACCTCTCACACTGGCTCCAGACACACAGCCTGTGCTTTTGGAGCTGAGAT<br/> CACTCGCTTACCCCTCCTCATCTTTGTTCTCCAAGTAAAGCCACGAGGTGCGGGCGAGGG<br/> CAGAGGTGATCACCTGCGTGTCCCATCTACAGACCTGCAGCTTCATAAACTTCTGATTT<br/> CTCTCAGCTTTGAAAAGGGTTACCCTGGGCACTGGCCTAGAGCCTCACCTCCTAATAGA<br/> CTTAGCCCCATGAGTTTGCCATGTTGAGCAGGACTATTTCTGGCACTTGCAAGTCCCATG<br/> ATTTCTTCGGTAATTCTGAGGGTGGGGGAGGGACATGAAATCATCTTAGCTTAGCTTTC<br/> TGTCTGTGAATGTCTATATAGTGATTGTGTGTTTTAACAAATGATTTACACTGACTGTT<br/> GCTGTAAAAGTGAATTTGAAAATAAAGTTATTACTCTGATTAAA</p> |
| 157 | <p>MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPLQTPTEGSEEPG<br/> SETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAQPHTEIPEGTTAEAEAGIGDTPSLEDEAAG<br/> HVTQEPESGKVVQEGFLREPGLSHQLMSGMPGAPLLPEGPREATRQPSGTGPEDTEG<br/> GRHAPELLKHQLLDLHQEGPPLKGAGGKERPGSKEEVEDEDRDVDESSPQDSPPSKASPA<br/> QDGRPPQTAAREATSIPGFPAEGAIPLPVDFLSKVSTEIPASEPDGPSVGRAKQDAPLE</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | <p>FTFHVEITPNVQKEQAHSEHLGRAAFPAGPEGPEARGPSLGEDTKEADLPEPSEKQPA<br/> AAPRGKPVSRVPQLKARMVSKSKDGTGSDDKKAKTSTRSSAKTLKNRPCLSPKHPTPGSS<br/> DPLIQPSSPAVCPEPPSSPKYVSSVTSRTGSSGAKEMKLKADGKTKIATPRGAAPPGQK<br/> GQANATRIPAKTPPAPKTPSSATKQVQRRPPPAGPRSERGEPPKSGDRSGYSSPGSPGT<br/> PGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNVSKSIGSTEN<br/> LKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDLKSVTSKCGSL<br/> GNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAK<br/> TDHGAIEIVYKSPVVS GDTS PRHLSNVSSSTGSI DMVDS PQLATLADEV SASLAKQGL</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 158 | <p>GCAGTCACCGCCACCCACCAGCTCCGGCACCAACAGCAGCGCCGCTGCCACCGCCACCT<br/> TCTGCCCGCCACCACAGCCACCTTCTCCTCCTCCGCTGTCTCTCCCGTCTCGCCTC<br/> TGTCGACTATCAGGTGAAC TTTGAACCAGGATGGCTGAGCCCCGCCAGGAGTTCGAAGTG<br/> ATGGAAGATCACGCTGGGACGTACGGGTGGGGGACAGGAAAGATCAGGGGGGCTACACC<br/> ATGCACCAAGACCAAGAGGGTGACACGGACGCTGGCCTGAAAGAATCTCCCTGCAGACC<br/> CCCACTGAGGACGGATCTGAGGAACCGGGCTCTGAAACCTCTGATGCTAAGAGCACTCCA<br/> ACAGCGGAAGCTGAAGAAGCAGGCATTGGAGACACCCCGAGCTGGAAGACGAAGCTGCT<br/> GGTCACGTGACCCAAGCTCGCATGGTCAGTAAAAGCAAAGACGGGACTGGAAGCGATGAC<br/> AAAAAGCCAAGGGGGCTGATGGTAAAACGAAGATCGCCACACCGCGGGGAGCAGCCCCCT<br/> CCAGGCCAGAAGGGCCAGGCCAACGCCACCAGGATTCCAGCAAAAACCCCGCCCGCTCCA<br/> AAGACACCACCCAGCTCTGGTGAACCTCCAAAATCAGGGGATCGCAGCGGTACAGCAGC<br/> CCCGGCTCCCCAGGCACTCCCGGAGCCGCTCCCGCACCCCGTCCCTTCCAACCCACCC<br/> ACCCGGGAGCCCAAGAAGGTGGCAGTGGTCCGTACTCCACCCAAGTCGCCGTCTTCCGCC<br/> AAGAGCCGCTGCAGACAGCCCCGTGCCATGCCAGACCTGAAGAATGTCAAGTCCAAG<br/> ATCGGCTCCACTGAGAACCTGAAGCACCAGCCGGGAGGCGGGAAGGTGCAGATAATTAAT<br/> AAGAAGCTGGATCTTAGCAACGTCCAGTCCAAGTGTGGCTCAAAGGATAATATCAAACAC<br/> GTCCCGGAGGCGGCAGTGTGCAAATAGTCTACAAACCAAGTTGACCTGAGCAAGGTGACC<br/> TCCAAGTGTGGCTCATTAGGCAACATCCATCATAAACCAGGAGGTGGCCAGGTGGAAGTA<br/> AAATCTGAGAAGCTTGACTTCAAGGACAGAGTCCAGTCAAGATTGGGTCCCTGGACAAT<br/> ATCACCCACGTCCCTGGCGGAGGAAATAAAAAGATTGAAACCCACAAGCTGACCTTCCGC<br/> GAGAACGCCAAAGCCAAGACAGACCACGGGGCGGAGATCGTGTACAAGTCGCCAGTGGTG<br/> TCTGGGGACACGTCTCCACGGCATCTCAGCAATGTCTCCTCCACCGGCAGCATCGACATG<br/> GTAGACTCGCCCCAGCTCGCCACGCTAGCTGACGAGGTGTCTGCCTCCCTGGCCAAGCAG<br/> GGTTTGTGATCAGGCCCCCTGGGGCGGTCAATAATTGTGGAGAGGAGAGAATGAGAGAGTG<br/> TGGAAAAAAAAGAATAATGACCCGGCCCCCGCCCTCTGCCCCAGCTGCTCCTCGCAGT<br/> TCGGTTAATTGGTTAATCACTTAACCTGCTTTTGTCACTCGGCTTTGGCTCGGGACTTCA<br/> AAATCAGTGATGGGAGTAAGAGCAAATTTTCATCTTTCCAAATTGATGGGTGGGCTAGTAA<br/> TAAATATTTAAAAAAAACATTCAAAAACATGGCCACATCCAACATTTCCCTCAGGCAAT<br/> TCCTTTTGATTCTTTTCTTCCCTCCATGTAGAAGAGGGAGAAGGAGAGGCTCTGAA<br/> AGCTGCTTCTGGGGATTTCAGGGACTGGGGTGCCAACCACCTCTGGCCCTGTTGTGG<br/> GGGTGTACAGAGGCAGTGGCAGCAACAAAGGATTTGAAACTTGGTGTGTCTCGTGGAGCC<br/> ACAGGCAGACGATGTCAACCTTGTGTGAGTGTGACGGGGGTGGGGTGGGGCGGGAGGCC<br/> ACGGGGGAGGCCGAGGCAGGGGCTGGGCAGAGGGGAGAGGAAGCACAAGAAGTGGGAGTG<br/> GGAGAGGAAGCCACGTGCTGGAGAGTAGACATCCCCCTCCTTGCCGCTGGGAGAGCCAAG<br/> GCCTATGCCACCTGCAGCGTCTGAGCGGCCGCTGTCTTGGTGGCCGGGGGTGGGGGCC<br/> TGCTGTGGGTCA GTGTGCCACCCTCTGCAGGGCAGCCTGTGGGAGAAGGGACAGCGGGTA<br/> AAAAGAGAAGGCAAGCTGGCAGGAGGGTGGCACTTCGTGGATGACCTCCTTAGAAAAGAC<br/> TGACCTTGATGTCTTGAGAGCGCTGGCCTCTTCCTCCCTCCCTGCAGGGTAGGGGGCCTG<br/> AGTTGAGGGGCTTCCCTCTGCTCCACAGAAACCTGTTTTATTGAGTTCTGAAGGTTGGA<br/> ACTGCTGCCATGATTTTGGCCACTTTCAGACCTGGGACTTAGGGCTAACCAGTTCTCT<br/> TTGTAAGGACTTGTGCCTCTTGGGAGACGTCCACCCGTTTCCAAGCCTGGGCCACTGGCA<br/> TCTCTGGAGTGTGTGGGGTCTGGGAGGCAGGTCCCGAGCCCCCTGTCTTCCACAGGCC<br/> ACTGCAGTCACCCCGTCTGCGCCGCTGTGCTGTTGTCTGCCGTGAGAGCCCAATCACTGC<br/> CTATACCCCTCATCACACGTACAATGTCCCGAATTCACAGCCTCACCACCCCTTCTCAG</p> |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | <p>TAATGACCCTGGTTGGTTGCAGGAGGTACCTACTCCATACTGAGGGTGAAATTAAGGGAA<br/> GGCAAAGTCCAGGCACAAGAGTGGGACCCAGCCTCTCACTCTCAGTTCCACTCATCCAA<br/> CTGGGACCCTCACCACGAATCTCATGATCTGATTTCGGTTCCCTGTCTCCTCCTCCCGTCA<br/> CAGATGTGAGCCAGGGCACTGCTCAGCTGTGACCCTAGGTGTTTCTGCCTTGTTGACATG<br/> GAGAGAGCCCTTTCCCTGAGAAGGCCTGGCCCTTCTGTGCTGAGCCCACAGCAGCAG<br/> GCTGGGTGTCTTGGTTGTGTCAGTGGTGGCACCAGGATGGAAGGGCAAGGCACCCAGGGCAG<br/> GCCCACAGTCCCGCTGTCCCCACTTGCACCCTAGCTTGTAGCTGCCAACCTCCAGACA<br/> GCCCAGCCCGCTGCTCAGCTCCACATGCATAGTATCAGCCCTCCACACCCGACAAAGGGG<br/> AACACACCCCTTGGAATGGTTCTTTTCCCCAGTCCCAGCTGGAAGCCATGCTGTCTG<br/> TTCTGCTGGAGCAGCTGAACATATACATAGATGTTGCCCTGCCCTCCCCATCTGCACCCT<br/> GTTGAGTTGTAGTTGGATTTGTCTGTTTATGCTTGGATTACCCAGAGTGACTATGATAGT<br/> GAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGACGCATGTATCTTGAAATGCTTGTAAGAGGTTT<br/> CTAACCCACCTCACGAGGTGTCTCTCACCCCCACACTGGGACTCGTGTGGCTGTGTGG<br/> TGCCACCCTGCTGGGGCCTCCCAAGTTTGAAGGCTTTCCTCAGCACCTGGGACCCAAC<br/> AGAGACCAGCTTCTAGCAGCTAAGGAGGCCGTTGAGCTGTGACGAAGGCCGTAAGCACAG<br/> GATTAGGACTGAAGCGATGATGTCCCCTTCCCTACTTCCCCTTGGGGCTCCCTGTGTGTCAG<br/> GGCACAGACTAGGTCTTGTGGCTGGTCTGGCTTGC GGCGGAGGATGGTTCTCTCTGGTCT<br/> ATAGCCCGAAGTCTCATGGCAGTCCCAAAGGAGGCTTACAACCTCCTGCATCACAAGAAAA<br/> AGGAAGCCACTGCCAGCTGGGGGGATCTGCAGCTCCCAGAAGCTCCGTGAGCCTCAGCCA<br/> CCCCCTCAGACTGGGTTCCCTCTCCAAGCTCGCCCTCTGGAGGGGCAGCGCAGCCTCCCACC<br/> AAGGGCCCTGCGACCACAGCAGGGATTGGGATGAATTGCCTGTCTGGATCTGCTCTAGA<br/> GGCCCAAGCTGCCTGCCTGAGGAAGGATGACTTGACAAGTCAGGAGACACTGTTCCCAAA<br/> GCCTTGACCAGAGCACCTCAGCCCGCTGACCTTGCACAACTCCATCTGCTGCCATGAGA<br/> AAAGGGAAGCCGCCCTTGCAAAACATTGCTGCCTAAAGAACTCAGCAGCCTCAGGCCCA<br/> ATTCTGCCACTTCTGGTTTGGGTACAGTTAAAGGCAACCCTGAGGGACTTGGCAGTAGAA<br/> ATCCAGGGCCTCCCCTGGGGCTGGCAGCTTCGTGTGAGCTAGAGCTTTACCTGAAAGGA<br/> AGTCTCTGGGCCCAGAACTCTCCACCAAGAGCCTCCCTGCCGTTGCTGAGTCCCAGCAA<br/> TTCTCCTAAGTTGAAGGGATCTGAGAAGGAGAAGGAAATGTGGGGTAGATTTGGTGGTGG<br/> TTAGAGATATGCCCCCTCATTACTGCCAACAGTTTCGGCTGCATTTCTTCACGCACCTC<br/> GGTTCTCTTCTGAAGTTCTTGTGCCCTGCTCTTCAGCACCATGGGCCTTCTTATACGG<br/> AAGGCTCTGGGATCTCCCCCTTGTGGGGCAGGCTCTTGGGGCCAGCCTAAGATCATGGTT<br/> TAGGGTGATCAGTGTGTCAGATAAATTGAAAAGGCACGCTGGCTTGTGATCTTAAATGA<br/> GGACAAATCCCCCAGGGCTGGGCACTCCTCCCCTCCCCTCACTTCTCCCACCTGCAGAGC<br/> CAGTGTCTTGGGTGGGCTAGATAGGATATACTGTATGCCGGCTCCTTCAAGCTGCTGAC<br/> TCACTTTATCAATAGTTCCATTTAAATTGACTTCAGTGGTGAGACTGTATCCTGTTTGCT<br/> ATTGCTTGTTGTGCTATGGGGGGAGGGGGAGGAATGTGTAAGATAGTTAACATGGGCAA<br/> AGGGAGATCTTGGGGTGACACTTAAACTGCCTCGTAACCCTTTTCATGATTTCAACCA<br/> CATTTGCTAGAGGGAGGGAGCAGCCACGGAGTTAGAGGCCCTTGGGGTTTCTCTTTTCCA<br/> CTGACAGGCTTTCCAGGCAGCTGGCTAGTTCAATCCCTCCCAGCCAGGTGCAGGCGTA<br/> GGAATATGGACATCTGGTTGCTTTGGCCTGCTGCCCTCTTTCAGGGGTCCTAAGCCCACA<br/> ATCATGCCCTCCCTAAGACCTTGGCATCCTTCCCTCTAAGCCGTTGGCACCTCTGTGCCAC<br/> CTCTCACACTGGCTCCAGACACACAGCCTGTGCTTTTGGAGCTGAGATCACTCGCTTCAC<br/> CCTCCTCATCTTTGTTCTCCAAGTAAAGCCACGAGGTGCGGGCGAGGGCAGAGGTGATCA<br/> CCTGCGTGTCCATCTACAGACCTGCAGCTTCATAAACTTCTGATTTCTCTCAGCTTT<br/> GAAAAGGGTTACCTTGGGCACTGGCCTAGAGCCTCACCTCCTAATAGACTTAGCCCCATG<br/> AGTTTGCCATGTTGAGCAGGACTATTTCTGGCACTTGCAAGTCCCATGATTTCTTCGGTA<br/> ATTCTGAGGGTGGGGGGAGGGACATGAAATCATCTTAGCTTAGCTTTCTGTCTGTGAATG<br/> TCTATATAGTGATTGTGTGTTTTAACAAATGATTTACACTGACTGTTGCTGTAAAAGTG<br/> AATTTGAAATAAAGTTATTACTCTGATTAAA</p> |
| 159 | <p>MAEPRQEFVEMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPLQTPTEDGSEEPG<br/> SETSDAKSTPTAEAEAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKAKGADGKT<br/> KIATPRGAAPPQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSR</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | <p>SRTPSLPTPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLKNVSKIGSTENLKHQ<br/> PGGKQVI INKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKCGSLGNIH<br/> HKPGGGQVEVKSEKLDKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHG<br/> AEIVYKSPVVSQDTSRHLNSVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSSASLAKQGL</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 160 | <p>GCAGTCACCGCCACCCACCAGCTCCGGCACCAACAGCAGCGCCGCTGCCACCGCCACCT<br/> TCTGCCGCGCCACCACAGCCACCTTCTCCTCCTCCGCTGTCTCTCCCGTCTCGCCTC<br/> TGTCGACTATCAGGTGAACCTTGAACCAGGATGGCTGAGCCCCGCCAGGAGTTCGAAGTG<br/> ATGGAAGATCACGCTGGGACGTACGGGTGGGGGACAGGAAAGATCAGGGGGCTACACC<br/> ATGCACCAAGACCAAGAGGGTGACACGGACGCTGGCCTGAAAGCTGAAGAAGCAGGCATT<br/> GGAGACACCCCGCCTGGAAGACGAAGCTGCTGGTCACGTGACCCAAGCTCGCATGGTC<br/> AGTAAAAGCAAAGACGGGACTGGAAGCGATGACAAAAAGCCAAGGGGGCTGATGGTAAA<br/> ACGAAGATCGCCACACCGCGGGGAGCAGCCCTCCAGGCCAGAAGGGCCAGGCCAACGCC<br/> ACCAGGATTCCAGCAAAAACCCCGCCCGCTCCAAAGACACCACCAGCTCTGGTGAACCT<br/> CCAAAATCAGGGGATCGCAGCGGTACAGCAGCCCCGGCTCCCCAGGCACTCCCGGCAGC<br/> CGTCCCGCACCCCGTCCCTTCCAACCCACCCACCGGGAGCCCAAGAAGTGGCAGTG<br/> GTCCGTACTCCACCAAGTCGCCGTCTCCGCCAAGAGCCGCTGCAGACAGCCCCGTG<br/> CCCATGCCAGACCTGAAGAATGTCAAGTCCAAGATCGGCTCCACTGAGAACCTGAAGCAC<br/> CAGCCGGGAGGCGGGAAGGTGCAAATAGTCTACAAACCAGTTGACCTGAGCAAGGTGACC<br/> TCCAAGTGTGGCTCATTAGGCAACATCCATCATAAACCAGGAGGTGGCCAGGTGGAAGTA<br/> AAATCTGAGAAGCTTGACTTCAAGGACAGAGTCCAGTCGAAGATTGGGTCCCTGGACAAT<br/> ATCACCCACGTCCCTGGCGGAGGAAATAAAAAGATTGAAACCCACAAGCTGACCTTCCGC<br/> GAGAACGCCAAAGCCAAGACAGACCACGGGGCGGAGATCGTGTAAGTCGCCAGTGGTG<br/> TCTGGGGACACGTCTCCACGGCATCTCAGCAATGTCTCCTCCACCGGCAGCATCGACATG<br/> GTAGACTCGCCCCAGCTCGCCACGCTAGCTGACGAGGTGTCTGCCTCCCTGGCCAAGCAG<br/> GGTTTGTGATCAGGCCCCCTGGGGCGGTCAATAATTGTGGAGAGGAGAGAATGAGAGAGTG<br/> TGGAATAAATAAATAATGACCCGCGCCCCCGCCCTCTGCCCCAGCTGCTCCTCGCAGT<br/> TCGGTTAATTGGTTAATCACTTAACCTGCTTTTGTCACTCGGCTTTGGCTCGGGACTTCA<br/> AAATCAGTGATGGGAGTAAGAGCAAATTTTCATCTTTCCAAATTGATGGGTGGGCTAGTAA<br/> TAAAATATTTAAAAAAAACATTCAAAAACATGGCCACATCCAACATTTCTCAGGCAAT<br/> TCCTTTTGATTCTTTTTTCTTCCCCCTCCATGTAGAAGAGGGAGAAGGAGAGGCTCTGAA<br/> AGCTGCTTCTGGGGGATTTCAAGGGACTGGGGGTGCCAACCACCTCTGGCCCTGTTGTGG<br/> GGGTGTCACAGAGGCAGTGGCAGCAACAAAGGATTTGAACTTGGTGTGTTCTGTGGAGCC<br/> ACAGGCAGACGATGTCAACCTTGTGTGAGTGTGACGGGGGTGGGGTGGGGCGGGAGGCC<br/> ACGGGGGAGGCCGAGGCAGGGGCTGGGCAGAGGGGAGAGGAAGCACAGAAGTGGGAGTG<br/> GGAGAGGAAGCCACGTGCTGGAGAGTAGACATCCCCCTCCTTGCCGCTGGGAGAGCCAAG<br/> GCCTATGCCACCTGCAGCGTCTGAGCGGCCCGCTGTCTTGGTGGCCGGGGTGGGGGCC<br/> TGCTGTGGGTGAGTGTGCCACCTCTGCAGGGCAGCCTGTGGGAGAAGGGACAGCGGGTA<br/> AAAAGAGAAGGCAAGCTGGCAGGAGGGTGGCACTTCGTGGATGACCTCCTTAGAAAAGAC<br/> TGACCTTGATGTCTTGAGAGCGCTGGCCTCTTCTCCCTCCCTGCAGGGTAGGGGGCTG<br/> AGTTGAGGGGCTTCCCTCTGCTCCACAGAAACCCTGTTTTATTGAGTTCTGAAGGTGGA<br/> ACTGCTGCCATGATTTTGGCCACTTTGCAGACCTGGGACTTTAGGGCTAACCAAGTTCTCT<br/> TTGTAAGGACTTGTGCCTCTTGGGAGACGTCCACCCGTTTCCAAGCCTGGGCCACTGGCA<br/> TCTCTGGAGTGTGTGGGGGTCTGGGAGGCAGGTCCCAGCCCCCTGTCTTCCCACGGCC<br/> ACTGCAGTCACCCCGTCTGCGCCGCTGTGCTGTTGTCTGCCGTGAGAGCCCAATCACTGC<br/> CTATACCCCCTCATCACACGTACAATGTCCCGAATCCCAGCCTCACCACCCCTTCTCAG<br/> TAATGACCCTGGTTGGTTGCAGGAGGTACCTACTCCATACTGAGGGTGAAATTAAGGGAA<br/> GGCAAAGTCCAGGCACAAGAGTGGGACCCAGCCTCTCACTCTCAGTTCCACTCATCCAA<br/> CTGGGACCCCTCACCACGAATCTCATGATCTGATTGGTTCCCTGTCTCCTCCTCCCGTCA<br/> CAGATGTGAGCCAGGGCACTGCTCAGCTGTGACCCTAGGTGTTTCTGCCTTGTGACATG<br/> GAGAGAGCCCTTCCCCCTGAGAAGGCCTGGCCCCCTTCCTGTGCTGAGCCACAGCAGCAG<br/> GCTGGGTGTCTTGGTTGTGAGTGGTGGCACCAGGATGGAAGGGCAAGGCACCAGGGCAG<br/> GCCACAGTCCCGCTGTCCCCCACTTGACCCCTAGCTTGTAGCTGCCAACCTCCCAGACA</p> |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | GCCCAGCCCGCTGCTCAGCTCCACATGCATAGTATCAGCCCTCCACACCCGACAAAGGGG<br>AACACACCCCTTGAAATGGTTCTTTTCCCCCAGTCCCAGCTGGAAGCCATGCTGTCTG<br>TTCTGCTGGAGCAGCTGAACATATACATAGATGTTGCCCTGCCCTCCCATCTGCACCCT<br>GTTGAGTTGTAGTTGGATTTGTCTGTTTATGCTTGGATTACACAGAGTGACTATGATAGT<br>GAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGACGCATGTATCTTGAAATGCTTGTAAGAGGTTT<br>CTAACCCACCCCTCACGAGGTGTCTCTCACCCCCACACTGGGACTCGTGTGGCCTGTGTGG<br>TGCCACCCTGCTGGGGCCTCCCAAGTTTTGAAAGGCTTTCCTCAGCACCTGGGACCCAAC<br>AGAGACCAGCTTCTAGCAGCTAAGGAGGCCGTTAGCTGTGACGAAGGCCTGAAGCACAG<br>GATTAGGACTGAAGCGATGATGTCCCCTTCCCTACTTCCCCTTGGGGCTCCCTGTGTCTAG<br>GGCACAGACTAGGTCTTGTGGCTGGTCTGGCTTGCGGCGCGAGGATGGTTCTCTCTGGTC<br>ATAGCCCGAAGTCTCATGGCAGTCCCAAAGGAGGCTTACAACCTCTGCATCACAAGAAAA<br>AGGAAGCCACTGCCAGCTGGGGGGATCTGCAGCTCCCAGAAGCTCCGTGAGCCTCAGCCA<br>CCCCTCAGACTGGGTTCTCTCCAAGCTCGCCCTCTGGAGGGGCAGCGCAGCCTCCCACC<br>AAGGGCCCTGCGACCACAGCAGGGATTGGGATGAATTGCCTGTCTGGATCTGCTCTAGA<br>GGCCCAAGCTGCCTGCCTGAGGAAGGATGACTTGACAAGTCAGGAGACACTGTTCCCAAA<br>GCCTTGACCAGAGCACCTCAGCCCGCTGACCTTGACAAAACCTCCATCTGCTGCCATGAGA<br>AAAGGGAAGCCGCCTTTGCAAAACATTGCTGCCTAAAGAACTCAGCAGCCTCAGGCCCA<br>ATTCTGCCACTTCTGGTTTGGGTACAGTTAAAGGCAACCCTGAGGGACTTGGCAGTAGAA<br>ATCCAGGGCCTCCCCTGGGGCTGGCAGCTTCGTGTGCAGCTAGAGCTTTACCTGAAAGGA<br>AGTCTCTGGGGCCAGAACTCTCCACCAAGAGCCTCCCTGCCGTTCGCTGAGTCCCAGCAA<br>TTCTCCTAAGTTGAAGGGATCTGAGAAGGAGAAGGAAATGTGGGGTAGATTTGGTGGTGG<br>TTAGAGATATGCCCCCTCATTACTGCCAACAGTTTCGGCTGCATTTCTTCACGCACCTC<br>GGTTCTCTTCTGAAGTTCTTGTGCCCTGCTCTTCAGCACCATGGGCCTTCTTATACGG<br>AAGGCTCTGGGATCTCCCCCTTGTGGGGCAGGCTCTTGGGGCCAGCCTAAGATCATGGTT<br>TAGGGTGATCAGTGCTGGCAGATAAATTGAAAAGGCACGCTGGCTTGTGATCTTAAATGA<br>GGACAATCCCCCAGGGCTGGGCACTCCTCCCCTCCCCTCACTTCTCCCACCTGCAGAGC<br>CAGTGTCTTGGGTGGGCTAGATAGGATATACTGTATGCCGGCTCCTTCAAGCTGCTGAC<br>TCACTTTATCAATAGTTCCATTTAAATTGACTTCAGTGGTGAGACTGTATCCTGTTTGCT<br>ATTGCTTGTGTGCTATGGGGGGAGGGGGGAGGAATGTGTAAGATAGTTAACATGGGCAA<br>AGGGAGATCTTGGGGTGACACTTAAACTGCCTCGTAACCCTTTTCATGATTTCAACCA<br>CATTGCTAGAGGGAGGGAGCAGCCACGGAGTTAGAGGCCCTTGGGGTTTCTCTTTTCCA<br>CTGACAGGCTTTCCCAGGCAGCTGGCTAGTTCAATCCCTCCCCAGCCAGGTGCAGGCGTA<br>GGAATATGGACATCTGGTTGCTTTGGCCTGCTGCCCTCTTTCAGGGGTCTTAAGCCACA<br>ATCATGCCTCCCTAAGACCTTGGCATCCTTCCCTCTAAGCCGTTGGCACCTCTGTGCCAC<br>CTCTCACACTGGCTCCAGACACACAGCCTGTGCTTTTGGAGCTGAGATCACTCGCTTCAC<br>CCTCTCATCTTTGTTCTCCAAGTAAAGCCACGAGGTGCGGGCGAGGGCAGAGGTGATCA<br>CCTGCGTGTCCCATCTACAGACCTGCAGCTTCATAAAACTTCTGATTTCTCTCAGCTTT<br>GAAAAGGGTTACCCTGGGCACTGGCCTAGAGCCTCACCTCCTAATAGACTTAGCCCCATG<br>AGTTTGCCATGTTGAGCAGGACTATTTCTGGCACTTGCAAGTCCCATGATTTCTTCGGTA<br>ATTTCTAGGGTGGGGGGAGGGACATGAAATCATCTTAGCTTAGCTTTCTGTCTGTGAATG<br>TCTATATAGTGATTGTGTGTTTAAACAAATGATTTACACTGACTGTTGCTGTAAAAGTG<br>AATTGGAAATAAAGTTATTACTCTGATTAAA |
| 161 | MAEPRQEFVMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAE EAGIGDTPSLEDEA<br>AGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKAKAGADGKTKIATPRGAAPPGQKGQANATRIPAKTPPA<br>PKTPSSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSS<br>AKSRLQTAPVMPDLKNVSKIGSTENLKHQPGGKVQIVYKPVDSLKVTSCGSLGNIH<br>HKPGGGQVEVKSEKLDKDRVQSKIGSLDNITHVPGGNGKKIETHKLTFRENAKAKTDHG<br>AEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNVSS TGSIDMVDSPLATLADEVSSASLAKQGL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 162 | FEDLY                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 163 | LFGNMEEGDCPSDWKTDSTCR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 164 | AGKIT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 165 | VEKLTLTD                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 166 | EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISRSSSYIYYADSVKGRFT<br>ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIHGYSNSDAFDKWGQGTLVTVSSASTKGPCVFPLAPCSRS<br>TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVD<br>HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQF<br>NWKYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPR<br>EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD<br>KSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG |
| 167 | ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWKYVDGVEVHNAK<br>TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK<br>NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEAL<br>HNHYTQKSLSLGLG                                                                                                                                                                                                                                       |

## **REIVINDICACIONES**

1. Una proteína que comprende un dominio de unión al receptor de transferrina humano (TfR) monovalente, en donde el dominio de unión al TfR humano comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (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, 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.

2. La proteína de la reivindicación 1, en donde  
la HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, y LCDR3 comprenden  
5 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.  
10 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  
15 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  
25 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 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.: 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.

3. La proteína de la reivindicación 1 o 2, en  
donde la VH y VL comprenden las siguientes secuencias:

- 5 (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  
10 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.:  
15 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  
ident.: 35;
- 20 (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.:  
38 y la VL comprende la sec. con núm. de  
25 ident.: 37.

4. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el dominio de unión a TfR humano es un Fab, scFv, Fv, o scFab.

5 5. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende además una región constante de cadena pesada que comprende cisteína en el residuo 124 (de acuerdo con la numeración del índice EU).

10 6. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el dominio de unión a TfR humano comprende además una región constante de cadena ligera que comprende cisteína en el residuo 156 (de acuerdo con la numeración del índice EU).

15 7. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 que comprende además un extensor de vida media.

8. La proteína de la reivindicación 7, en donde el extensor de vida media se selecciona de una región Fc de inmunoglobulina o un VHH que se une a albúmina sérica  
20 humana (HSA).

9. La proteína de la reivindicación 7 u 8, en donde el extensor de vida media es una región Fc de inmunoglobulina.

10. La proteína de la reivindicación 9, en donde  
25 la región Fc es una región Fc de IgG4 humana modificada.

11. La proteína de la reivindicación 10, en donde la región Fc de IgG4 humana modificada 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).

12. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en donde la proteína comprende una región Fc de inmunoglobulina que comprende cisteína en el residuo 378 (de acuerdo con la numeración del índice EU).

13. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 9-12, en donde la región Fc comprende:

(a) 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); o

(b) 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).

14. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde la proteína comprende una cadena pesada (HC) y una cadena ligera (LC), en donde la HC y la LC comprenden las siguientes secuencias:

- 5           (a) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:  
53 y la LC comprende la sec. con núm. de  
ident.: 54;
- (b) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:  
55 y la LC comprende la sec. con núm. de  
10       ident.: 54;
- (c) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:  
56 y la LC comprende la sec. con núm. de  
ident.: 57;
- (d) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:  
15       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;
- 20       (f) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:  
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  
25       ident.: 63.

15. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde la proteína 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  
5 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 69.

16. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde la proteína comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde  
10 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.

17. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde la proteína comprende dos  
15 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.

18. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la proteína comprende una  
20 cadena pesada (HC) y una cadena ligera (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.

19. La proteína de la reivindicación 7 u 8, en  
25 donde el extensor de vida media es un VHH que se une a HSA.

20. La proteína de la reivindicación 19, en donde el 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  
5 ident.: 41.

21. La proteína de la reivindicación 19 o 20, en donde el VHH comprende la sec. con núm. de ident.: 42.

22. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 19-21, en donde la proteína comprende una  
10 cadena pesada (HC) y una cadena ligera (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.

23. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde la proteína es un  
15 anticuerpo heterodimérico que comprende un primer brazo que comprende un dominio de unión a TfR humano monovalente y un segundo brazo que es un brazo nulo.

24. La proteína de la reivindicación 23, en donde el segundo brazo comprende una VH y una VL, en donde la VH  
20 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, y en donde la HCDR1  
comprende la sec. con núm. de ident.: 43, la HCDR2  
25 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.

25. La proteína de la reivindicación 24, en donde  
5 la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 49 y la VL  
comprende la sec. con núm. de ident.: 50.

26. La proteína de una cualquiera de las  
reivindicaciones 23-25, en donde la proteína comprende dos  
cadenas pesadas HC1 y HC2 y dos cadenas ligeras LC1 y LC2,  
10 en donde la HC1, LC1, HC2, y LC2 comprenden las siguientes  
secuencias:

(a) 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.  
15 de ident.: 51, y la LC2 comprende la sec.  
con núm. de ident.: 52;

(b) 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.  
20 de ident.: 51, y la LC2 comprende la sec.  
con núm. de ident.: 52;

(c) 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.  
25 de ident.: 51, y la LC2 comprende la sec.  
con núm. de ident.: 52; o

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

27. Una proteína que comprende 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) 10 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. 15 con núm. de ident.: 164), y residuos 532-538 (VEKLTLD) (sec. con núm. de ident.: 165) de TfR humanos.

28. Una proteína que comprende un dominio de unión al receptor de transferrina (TfR) de ratón monovalente, en donde el dominio de unión a TfR de ratón comprende una región 20 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 cadena ligera LCDR1, LCDR2, y LCDR3, 25 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.

5           29. La proteína de la reivindicación 28, en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 77 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 78.

          30. La proteína de la reivindicación 28 o 29, en donde la proteína comprende una cadena pesada (HC) que  
10 comprende la sec. con núm. de ident.: 79 y una cadena ligera (LC) que comprende la sec. con núm. de ident.: 80.

          31. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 28-30, en donde la proteína es un anticuerpo heterodimérico que comprende un primer brazo que  
15 comprende un dominio de unión a TfR de ratón monovalente y un segundo brazo que es un brazo nulo.

          32. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 28-31, en donde la proteína comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y dos cadenas ligeras LC1 y LC2,  
20 en donde la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 79, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 80, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 51, y la LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52.

          33. Un conjugado que comprende la proteína de una  
25 cualquiera de las reivindicaciones 1-32 y un agente terapéutico.

34. El conjugado de la reivindicación 33, en donde el agente terapéutico se selecciona entre un ARN bicatenario, oligonucleótido, péptido, molécula pequeña, nanopartícula, nanopartícula lipídica, exosoma, anticuerpo  
5 o fragmento de unión al antígeno de este, o una combinación de estos.

35. El conjugado de la reivindicación 33 o 34, en donde el agente terapéutico se une a la proteína a través de un enlazador.

10 36. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 33-35, en donde el agente terapéutico es un ARN bicatenario (ARNbc).

37. El conjugado de la reivindicación 36, en donde el ARNbc comprende una cadena codificante y una cadena  
15 no codificante, en donde la cadena no codificante es complementaria de un ARNm diana seleccionado entre ARNm de SNCA, MAPT, APP, ATXN2, ATXN3, SARM1, APOE, BACE1, FMR1, LRRK2, HTT, SOD1, SCN10A, SCN9A o CACNA1B.

38. El conjugado de la reivindicación 37, en donde  
20 la cadena no codificante es complementaria al ARNm de SNCA.

39. El conjugado de la reivindicación 37, en donde la cadena no codificante es complementaria al ARNm de MAPT.

40. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 35-39, en donde el enlazador es un  
25 enlazador de Mal-Tet-TCO, enlazador de SMCC, o enlazador de GDM.

41. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 33-40, en donde la relación de agente terapéutico respecto a proteína es de aproximadamente 1:1 a 3:1.

5                   42. Un conjugado 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  
10 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  
15 (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la VH comprende regiones determinantes de complementariedad de cadenas pesadas HCDR1, HCDR2, y HCDR3, y la VL comprende regiones determinantes de  
20 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  
25                   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.  
 5 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,  
 10 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.

43. El conjugado de la reivindicación 42, en donde  
 15 la relación R respecto a P es de aproximadamente 1:1 a 3:1.

44. Un conjugado de la Fórmula (II):  $(R-L)_n-P$ ,  
 en donde R es un ARN bicatenario (ARN<sub>bc</sub>) que  
 comprende una cadena codificante y una  
 cadena no codificante;  
 20 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  
 25 comprende una región variable de cadena pesada  
 (VH) y una región variable de cadena ligera

(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 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.

45. El conjugado de la reivindicación 44, en donde  
n es 1.

46. El conjugado de la reivindicación 44, en donde  
n es 2.

5           47. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-46, en donde la 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  
10           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;

15           (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  
20           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  
25           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  
5 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;

10 (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  
15 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  
20 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  
comprende la sec. con núm. de ident.: 18.

5           48. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-47, 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  
10           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.:  
15           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;

20           (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  
25           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.

49. El conjugado de una cualquiera de las  
5 reivindicaciones 42-47, 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  
10 comprende la sec. con núm. de ident.: 12.

50. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-48, en donde la VH comprende la sec.  
con núm. de ident.: 32 y la VL comprende la sec. con núm.  
de ident.: 33.

15 51. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-50, en donde el dominio de unión a Tfr  
humano es un Fab, scFv, Fv, o scFab.

52. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-51, en donde el dominio de unión a Tfr  
20 humano comprende además una región constante de cadena  
pesada que comprende cisteína en el residuo 124 (de acuerdo  
con la numeración del índice EU).

53. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-52, en donde el dominio de unión a Tfr  
25 humano comprende además una región constante de cadena

ligera que comprende cisteína en el residuo 156 (de acuerdo con la numeración del índice EU).

54. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-53, en donde la proteína comprende además  
5 un extensor de vida media.

55. El conjugado de la reivindicación 54, en donde el extensor de vida media se selecciona entre una región Fc de inmunoglobulina o un VHH que se une a albúmina sérica humana (HSA).

10 56. El conjugado de la reivindicación 55, en donde el extensor de vida media es una región Fc de inmunoglobulina.

57. El conjugado de la reivindicación 56, en donde la región Fc de inmunoglobulina es una región Fc de  
15 IgG4 humana modificada.

58. El conjugado de la reivindicación 57, en donde la región Fc de IgG4 humana modificada comprende prolina en el residuo 228, y alanina en los residuos 234 y 235 (todos los residuos se numeran de acuerdo con la  
20 numeración del índice EU).

59. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 56-58, en donde la proteína comprende una región Fc de inmunoglobulina que comprende cisteína en el residuo 378 (de acuerdo con la numeración del índice EU).

25 60. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 56-59, en donde la región Fc comprende:

- 5 (a) 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); o
- 10 (b) 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).
- 15

61. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-59, en donde la proteína comprende una cadena pesada (HC) y una cadena ligera (LC), en donde la HC y la LC comprenden las siguientes secuencias:

- 20 (a) la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 53 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 54;
- (b) la HC comprende la sec. con núm. de ident.: 55 y la LC comprende la sec. con núm. de
- 25 ident.: 54;

- (c) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:  
56 y la LC comprende la sec. con núm. de  
ident.: 57;
- (d) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:  
5 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;
- 10 (f) la HC comprende la sec. con núm. de ident.:  
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  
15 ident.: 63.

62. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-60, en donde la proteína 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  
20 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la HC2 comprende  
la sec. con núm. de ident.: 69.

63. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-60, en donde la proteína comprende dos  
cadenas pesadas HC1 y HC2 y una cadena ligera LC1, en donde  
25 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.

64. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-60, en donde la proteína comprende 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.

65. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-51, en donde la proteína comprende una cadena pesada (HC) y una cadena ligera (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.

66. El conjugado de la reivindicación 54, en donde el extensor de vida media es un VHH que se une a HSA.

67. El conjugado de la reivindicación 66, en donde el 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.

68. El conjugado de la reivindicación 66 o 67, en donde el VHH comprende la sec. con núm. de ident.: 42.

69. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 66-68, en donde la proteína comprende una cadena pesada (HC) y una cadena ligera (LC), en donde la

HC comprende la sec. con núm. de ident.: 66 y la LC comprende la sec. con núm. de ident.: 67.

70. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-60, en donde la proteína es un anticuerpo heterodimérico que comprende un primer brazo que comprende un dominio de unión a TfR humano monovalente y un segundo brazo que es un brazo nulo.

71. El conjugado de la reivindicación 70, en donde el segundo brazo 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 las regiones determinantes de complementariedad de cadenas ligeras LCDR1, LCDR2, y LCDR3, y 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.

72. El conjugado de la reivindicación 71, en donde la VH comprende la sec. con núm. de ident.: 49 y la VL comprende la sec. con núm. de ident.: 50.

73. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 70-72, en donde la proteína comprende dos cadenas pesadas HC1 y HC2 y dos cadenas ligeras LC1 y LC2,



en donde la HC1, LC1, HC2, y LC2 comprenden las siguientes secuencias:

- (a) 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 la LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52;
- (b) 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 la LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52;
- (c) 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 la LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52; o
- (d) la HC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 58, la LC1 comprende la sec. con núm. de ident.: 59, la HC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 51, y la LC2 comprende la sec. con núm. de ident.: 52.

74. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-73, en donde el enlazador es un enlazador de Mal-Tet-TCO, enlazador de SMCC, o enlazador de GDM.

75. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-74, en donde el enlazador es un enlazador de SMCC.

5 76. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-75, en donde P se une al extremo 3' de la cadena codificante del ARNbc, opcionalmente mediante el enlazador.

77. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-76, en donde la cadena no codificante es  
10 complementaria de un ARNm diana seleccionado entre ARNm de SNCA, MAPT, APP, ATXN2, ATXN3, SARM1, APOE, BACE1, FMR1, LRRK2, HTT, SOD1, SCN10A, SCN9A o CACNA1B.

78. El conjugado de la reivindicación 77, en donde la cadena no codificante es complementaria al ARNm de SNCA.

15 79. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-78, en donde la cadena codificante y la cadena no codificante comprenden un par de secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que consiste en:

(a) la cadena codificante comprende la sec. con  
20 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  
5 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;
- 10 (f) la cadena codificante comprende la sec. con  
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  
15 comprende la sec. con núm. 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  
20 uno o más enlaces internucleotídicos de la  
cadena codificante y la cadena no codificante  
son enlaces internucleotídicos modificados.

80. El conjugado de la reivindicación 79, en  
donde la cadena codificante comprende la sec. con núm. de  
25 ident.: 81 y la cadena no codificante comprende la sec. con  
núm. de ident.: 82.

81. El conjugado de la reivindicación 77, en donde la cadena no codificante es complementaria al ARNm de MAPT.

82. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-77 y 81, en donde la cadena codificante y la cadena no codificante 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.: 120, y la cadena no codificante comprende la sec. con núm. de ident.: 121;
- 10 (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 núm. de ident.: 124, y la cadena no codificante  
15 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  
20 uno o más enlaces internucleotídicos de la cadena codificante y la cadena no codificante son enlaces internucleotídicos modificados.

83. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-82, en donde uno o más nucleótidos de la  
25 cadena codificante son nucleótidos modificados.

84. El conjugado de la reivindicación 83, en donde cada nucleótido de la cadena codificante es un nucleótido modificado.

85. El conjugado de una cualquiera de las  
5 reivindicaciones 42-84, en donde uno o más nucleótidos de la cadena no codificante son nucleótidos modificados.

86. El conjugado de la reivindicación 85, en donde cada nucleótido de la cadena no codificante es un nucleótido modificado.

10 87. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 83-86, en donde el nucleótido modificado es un nucleótido modificado con 2'-fluoro, nucleótido modificado con 2'-O-metilo o nucleótido modificado con 2'-O-alquilo.

15 88. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 83-87, en donde la cadena codificante tiene cuatro nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las posiciones 7, 9, 10, y 11 desde el extremo 5' de la cadena codificante.

20 89. El conjugado de la reivindicación 88, en donde los nucleótidos en posiciones distintas de las posiciones 7, 9, 10, y 11 de la cadena codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

25 90. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 83-89, en donde la cadena no codificante tiene cuatro nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las

posiciones 2, 6, 14, y 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante.

91. El conjugado de la reivindicación 90, en donde los nucleótidos en posiciones distintas de las  
5 posiciones 2, 6, 14, y 16 de la cadena no codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

92. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 83-87, en donde la cadena codificante tiene tres nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las  
10 posiciones 9, 10, y 11 desde el extremo 5' de la cadena codificante.

93. El conjugado de la reivindicación 90, en donde los nucleótidos en posiciones distintas de las posiciones 9, 10, y 11 de la cadena codificante son  
15 nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

94. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 83-87, 92, 93, en donde la cadena no codificante tiene cinco nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las posiciones 2, 5, 7, 14, y 16 desde el extremo 5' de  
20 la cadena no codificante.

95. El conjugado de la reivindicación 94, en donde los nucleótidos en posiciones distintas de las posiciones 2, 5, 7, 14, y 16 de la cadena no codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

96. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 83-87, 92, 93, en donde la cadena no

codificante tiene cinco nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las posiciones 2, 5, 8, 14, y 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante.

97. El conjugado de la reivindicación 96, en donde los nucleótidos en posiciones distintas de las posiciones 2, 5, 8, 14, y 16 de la cadena no codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

98. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 83-87, 92, 93, en donde la cadena no codificante tiene cinco nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las posiciones 2, 3, 7, 14, y 16 desde el extremo 5' de la cadena no codificante.

99. El conjugado de la reivindicación 98, en donde los nucleótidos en posiciones distintas de las posiciones 2, 3, 7, 14, y 16 de la cadena no codificante son nucleótidos modificados con 2'-O-metilo.

100. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-99, en donde la cadena codificante y la cadena no codificante tienen uno o más enlaces entre nucleótidos modificados.

101. El conjugado de la reivindicación 100, en donde el enlace entre nucleótidos modificado es un enlace fosforotioato.

102. El conjugado de la reivindicación 100 o 101, en donde la cadena codificante tiene cuatro o cinco enlaces fosforotioato.

103. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 100-102, en donde la cadena no codificante tiene cuatro o cinco enlaces fosforotioato.

104. El conjugado de una cualquiera de las  
5 reivindicaciones 42-103, en donde la cadena no codificante tiene un análogo de fosfato en el extremo 5'.

105. El conjugado de la reivindicación 104, en donde el análogo de fosfato es 5'-vinilfosfonato.

106. El conjugado de una cualquiera de las  
10 reivindicaciones 42-105, en donde la cadena codificante comprende una porción abásica o una porción abásica invertida.

107. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-106, en donde la cadena codificante  
15 comprende una porción abásica en la posición 10.

108. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 42-80 u 83-107, en donde la cadena codificante y la cadena no codificante comprenden un par de secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que  
20 consiste en:

- (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;
- 25 (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;
- 5 (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;
- 10 (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;
- (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;
- 15 (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;
- 20 (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;
- 25 (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;

- (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;
- 5 (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;
- (k) la cadena codificante comprende la sec. con  
10 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  
núm. de ident.: 118 o 149, y la cadena no  
15 codificante comprende la sec. con núm. de  
ident.: 97.

109. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-80 u 83-107, en donde la cadena  
codificante y la cadena no codificante tienen un par de  
20 secuencias 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  
25 ident.: 94;

- (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;
- 5 (c) 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.: 97;
- (d) la cadena codificante consiste en la sec. con  
10 núm. de ident.: 95 o 141, y la cadena no  
codificante consiste en la sec. con núm. de  
ident.: 98;
- (e) la cadena codificante consiste en la sec. con  
núm. de ident.: 99 o 142, y la cadena no  
15 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.  
20 de ident.: 101;
- (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;
- 25 (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;

(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;

(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 núm. de ident.: 118 o 149, y la cadena  
no codificante consiste en la sec. con núm.  
de ident.: 97.

110. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-77, u 81-107, en donde la cadena  
codificante y la cadena no codificante 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

codificante comprende la sec. con núm. de  
ident.: 127;

5 (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  
ident.: 129;

10 (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;

(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;

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

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

111. El conjugado de una cualquiera de las  
reivindicaciones 42-77 u 81-107, en donde la cadena  
25 codificante y la cadena no codificante comprenden un par

de secuencias de ácido nucleico seleccionadas del grupo que  
consiste en:

- (a) la cadena codificante consiste en la sec.  
con núm. de ident.: 126 o 150, y la cadena  
5 no codificante consiste en la sec. con núm.  
de ident.: 127;
- (b) la cadena codificante consiste en la sec.  
con núm. de ident.: 128 o 151, y la cadena  
no codificante consiste en la sec. con núm.  
10 de ident.: 129;
- (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;
- 15 (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.  
20 con núm. de ident.: 134 o 154, y la cadena  
no codificante consiste en la sec. con núm.  
de ident.: 135; y
- (f) la cadena codificante consiste en la sec.  
con núm. de ident.: 136 o 155, y la cadena  
25 no codificante consiste en la sec. con núm.  
de ident.: 137.

112. Una composición farmacéutica que comprende la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27 o el conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 33-111, y un portador farmacéuticamente aceptable.

5           113. Un método para tratar una enfermedad del SNC en un paciente que lo necesita, el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva del conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 33-111, o la composición farmacéutica de la reivindicación 112.

10           114. Un método para tratar una sinucleinopatía neurodegenerativa en un paciente que lo necesita, el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de un conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 38, 40-80, 83-109, o la composición farmacéutica de la  
15           reivindicación 112.

115. El método de la reivindicación 114, en donde la sinucleinopatía neurodegenerativa se selecciona entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, atrofia multisistémica, o demencia con cuerpos de Lewy.

20           116. Un método para tratar una tauopatía en un paciente que lo necesita, el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva del conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 39-77, 81-107, 110, 111, o la composición farmacéutica de la reivindicación 112.

25           117. El método de la reivindicación 116, en donde la tauopatía se selecciona entre enfermedad de Alzheimer,

demencia frontotemporal (FTD), demencia frontotemporal con parkinsonismo relacionado con el cromosoma 17 (FTDP-17), degeneración lobular frontotemporal (FTLD), demencia frontotemporal con variante conductual (bvFTD), afasia progresiva primaria con variante no fluida (nfvPPA), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick (PiD), afasia progresiva primaria - semántica (PPA-S), afasia progresiva primaria - 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 amiloidea de tipo británico, angiopatía amiloidea 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 por cuerpos de inclusión, encefalopatía saturnina, 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 amiloidea cerebral por proteína priónica, gliosis subcortical



progresiva, demencia solo por ovillos, demencia con predominio de ovillos, ganglioglioma, gangliocitoma, panencefalitis esclerosante subaguda, esclerosis tuberosa, lipofuscinosis, tauopatía primaria relacionada con la edad  
5 (PART), o tauopatías globulares gliales (GGT).

118. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 113-117, en donde el conjugado se administra al paciente por vía intravenosa o subcutánea.

119. El conjugado de una cualquiera de las  
10 reivindicaciones 33-111, o la composición farmacéutica de la reivindicación 112, para usar en una terapia.

120. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 38, 40-80, 83-109, o la composición farmacéutica de la reivindicación 112, para usar en el  
15 tratamiento de una sinucleinopatía neurodegenerativa.

121. El conjugado o composición farmacéutica para uso de la reivindicación 120, en donde la sinucleinopatía neurodegenerativa se selecciona entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, atrofia multisistémica,  
20 o demencia con cuerpos de Lewy.

122. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 39-77, 81-107, 110, 111, o la composición farmacéutica de la reivindicación 108, para usar en el tratamiento de una tauopatía.

25 123. El conjugado o composición farmacéutica para uso de la reivindicación 122, en donde la tauopatía se

selecciona entre enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (FTD), demencia frontotemporal con parkinsonismo relacionado con el cromosoma 17 (FTDP-17), degeneración lobular frontotemporal (FTLD), demencia  
5 frontotemporal con variante conductual (bvFTD), afasia progresiva primaria con variante no fluida (nfvPPA), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick (PiD), afasia progresiva primaria - semántica (PPA-S), afasia progresiva primaria - logopénica (PPA-L), tauopatía multisistémica con  
10 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  
15 amiloidea de tipo británico, angiopatía amiloidea 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  
20 Gerstmann-Straussler-Scheinker, enfermedad de Hallervorden-Spatz, enfermedad de Huntington, miositis por cuerpos de inclusión, encefalopatía saturnina, enfermedad de Lytico-Bodig, meningioangiomas, atrofia multisistémica, distrofia miotónica, enfermedad de Niemann-Pick tipo C (NP-  
25 C), enfermedad de la motoneurona no guamaniana con ovillos neurofibrilares, parkinsonismo posencefalítico, angiopatía

amiloidea cerebral por proteína priónica, gliosis subcortical progresiva, demencia solo por ovillos, demencia con predominio de ovillos, ganglioglioma, gangliocitoma, panencefalitis esclerosante subaguda, esclerosis tuberosa, lipofuscinosis, tauopatía primaria relacionada con la edad (PART), o tauopatías globulares gliales (GGT).

124. Uso del conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 33-111 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad del SNC.

10           125. Uso del conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 38, 40-80, 83-109 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una sinucleinopatía neurodegenerativa.

126. El uso de la reivindicación 125, en donde  
15 la sinucleinopatía neurodegenerativa se selecciona entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, atrofia multisistémica, o demencia con cuerpos de Lewy.

127. Uso del conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 39-77, 81-107, 110, 111 en la fabricación  
20 de un medicamento para el tratamiento de una tauopatía.

128. El uso de la reivindicación 127, en donde la tauopatía se selecciona de la enfermedad de Alzheimer (EA), demencia frontotemporal (FTD), demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (FTDP-17), degeneración  
25 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  
5 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  
10 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  
15 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-  
20 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,  
25 panencefalitis esclerosante subaguda, esclerosis tuberosa,

lipofuscinosis, tauopatía primaria relacionada con la edad (PART), o tauopatías globulares gliales (GGT).

## **RESUMEN**

En la presente descripción se proporcionan proteínas que comprenden un dominio de unión a TfR monovalente humano  
5 (“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,  
10 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.

Figura 1A

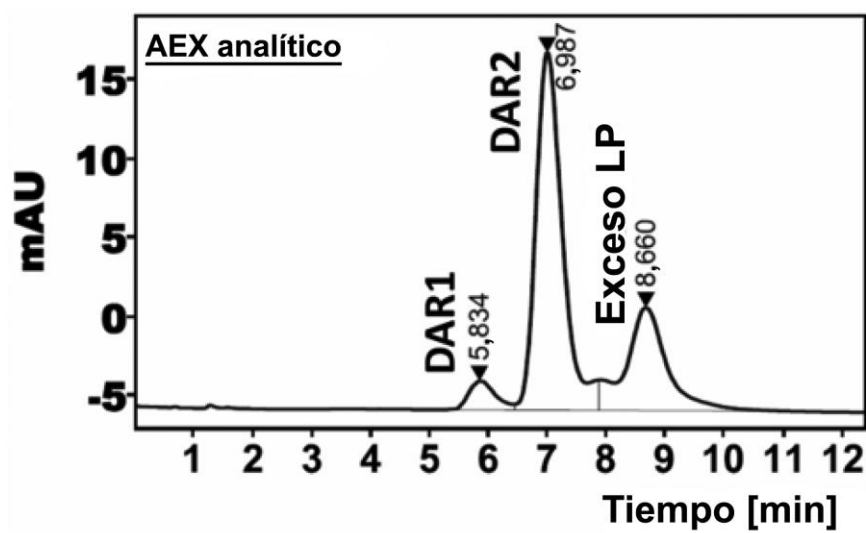


Figura 1B

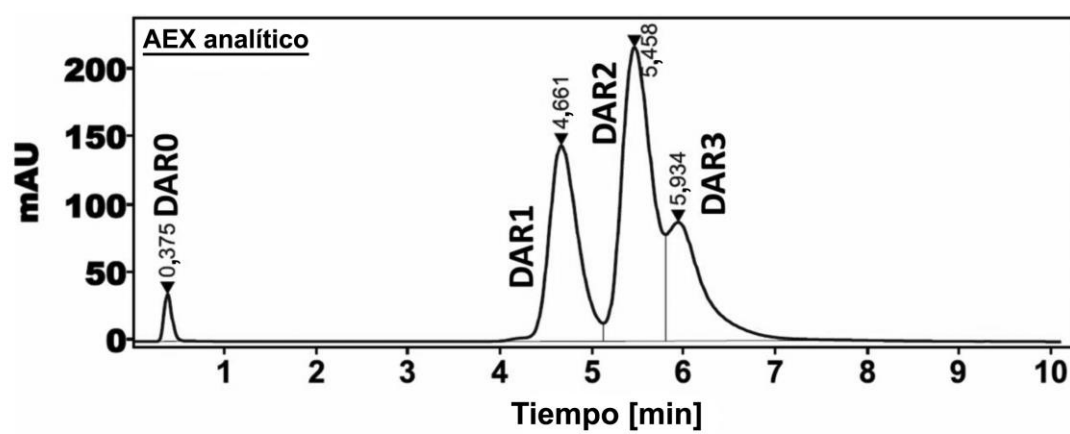


Figura 1C

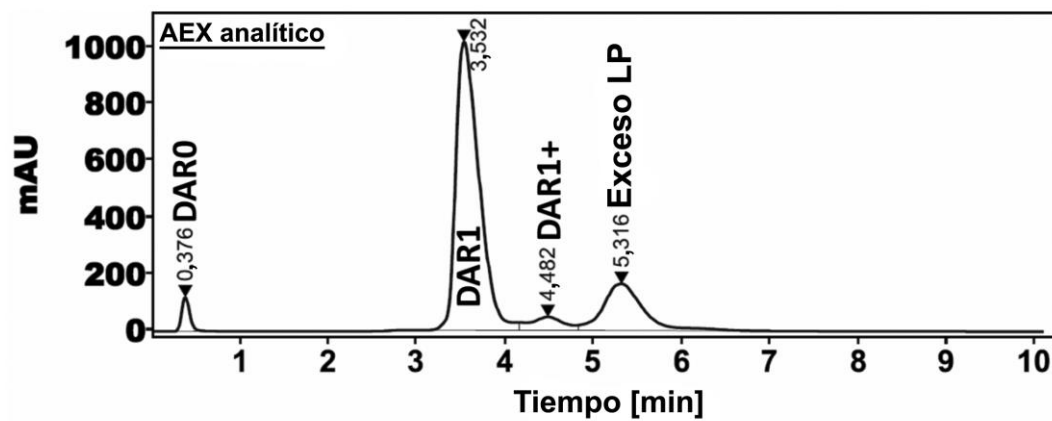


Figura 1D

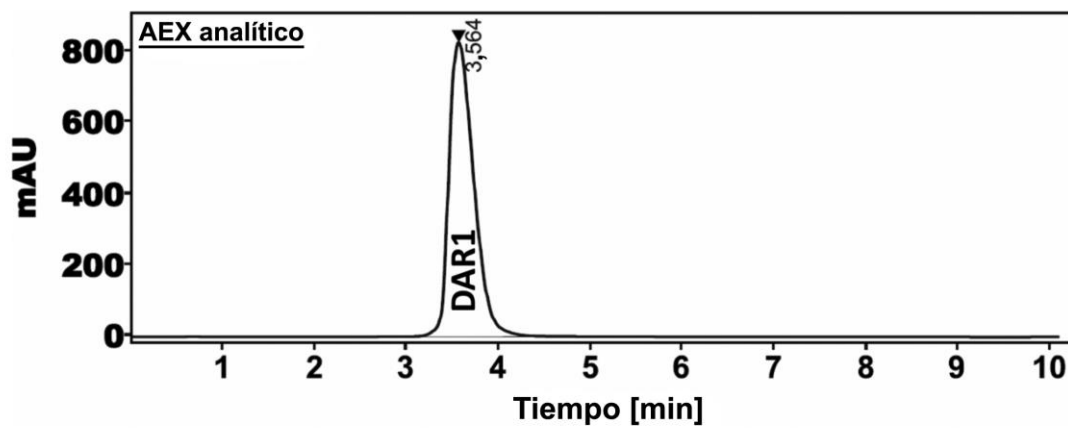




Figura 1E

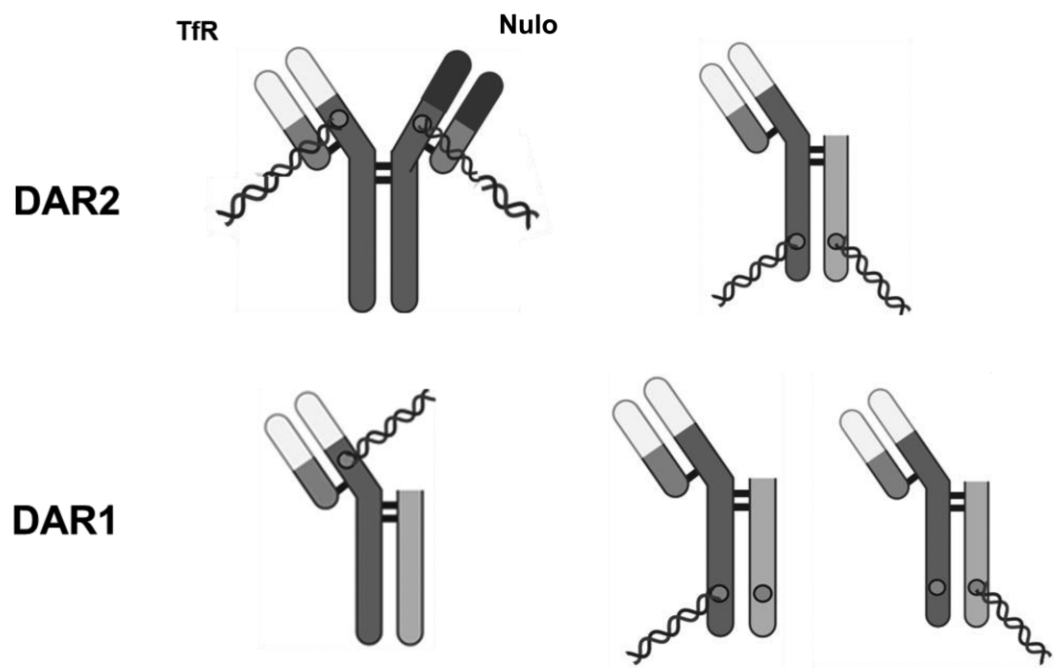


Figura 2

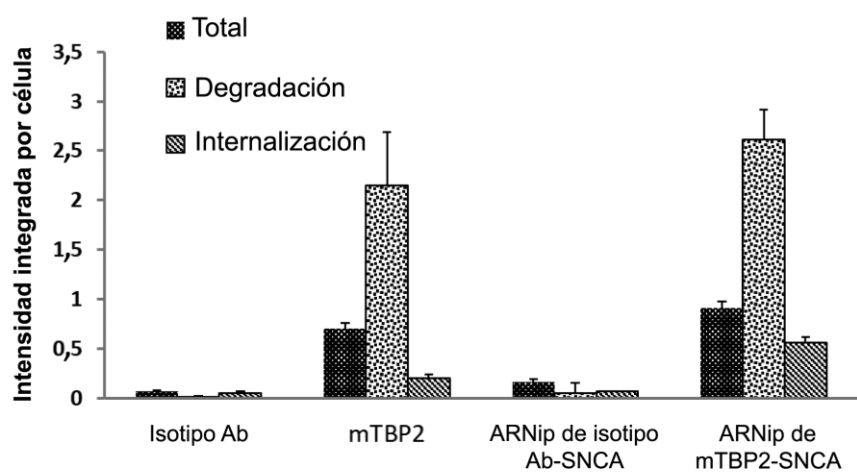


**Figura 3**

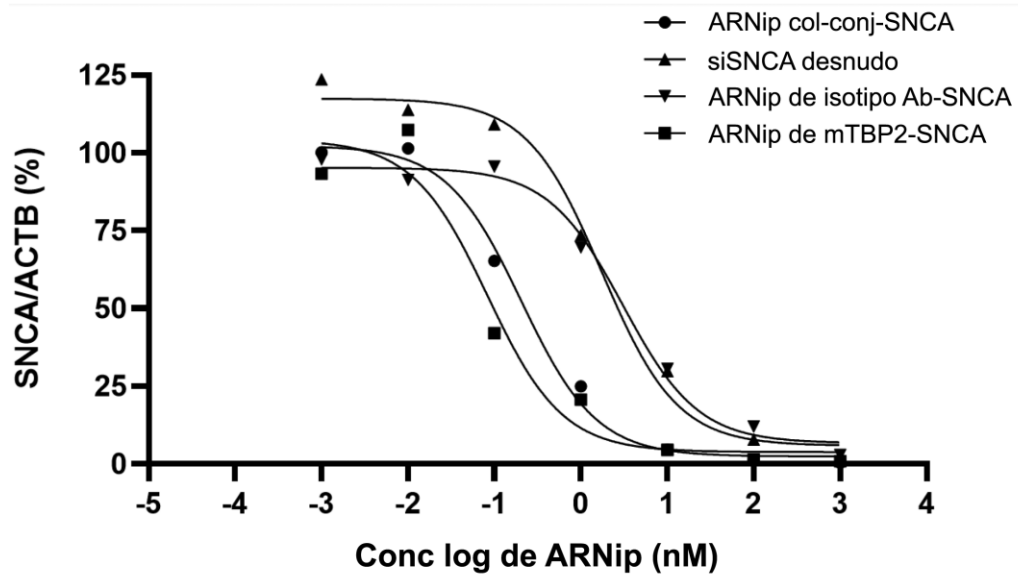


**Figura 4**

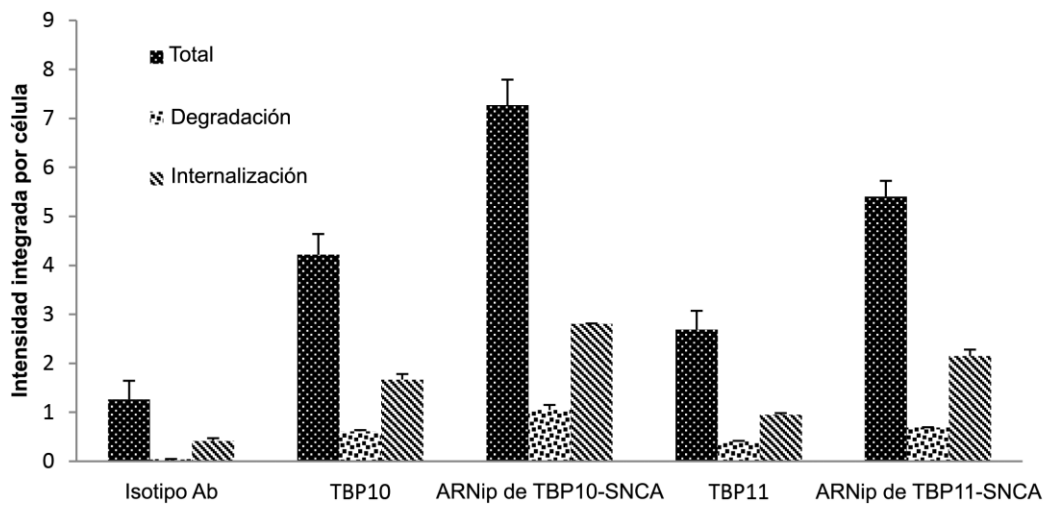


**Figura 5**

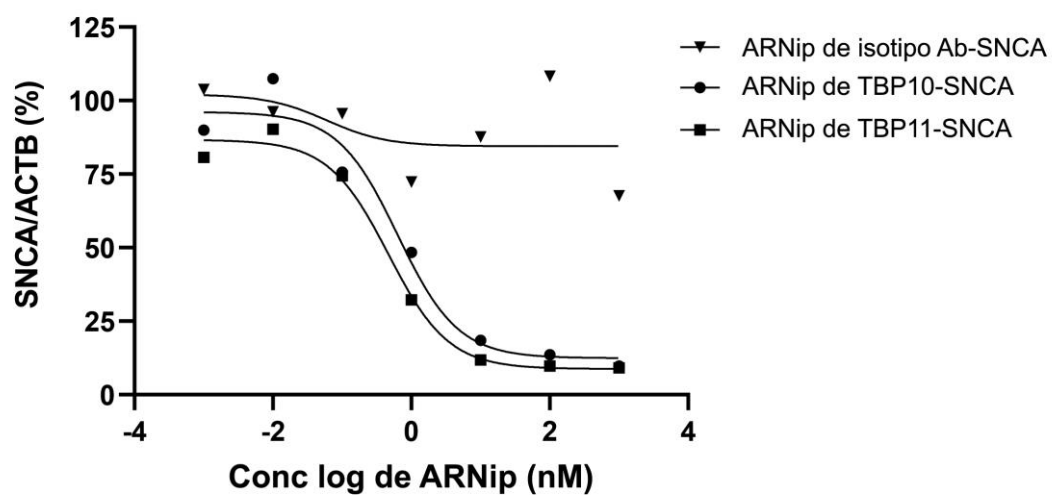


**Figura 6A**

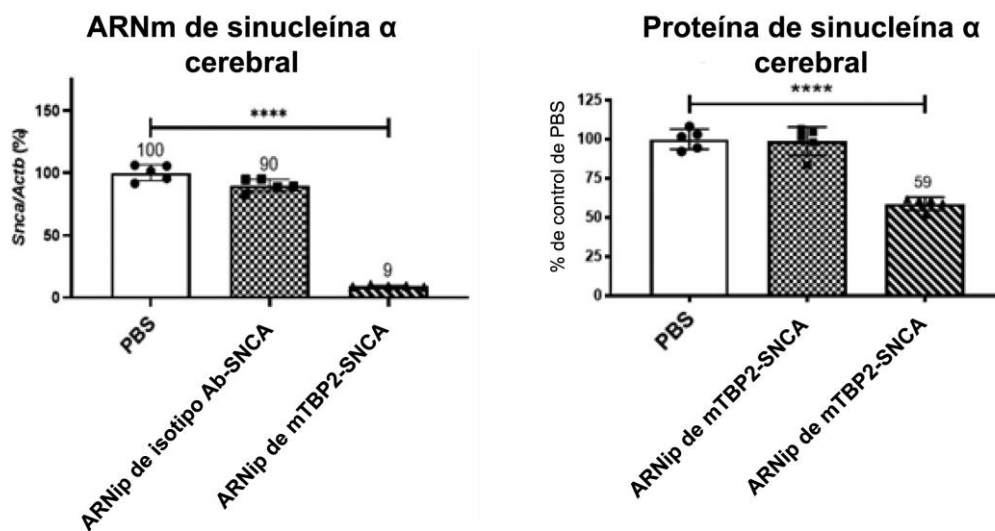


**Figura 6B**

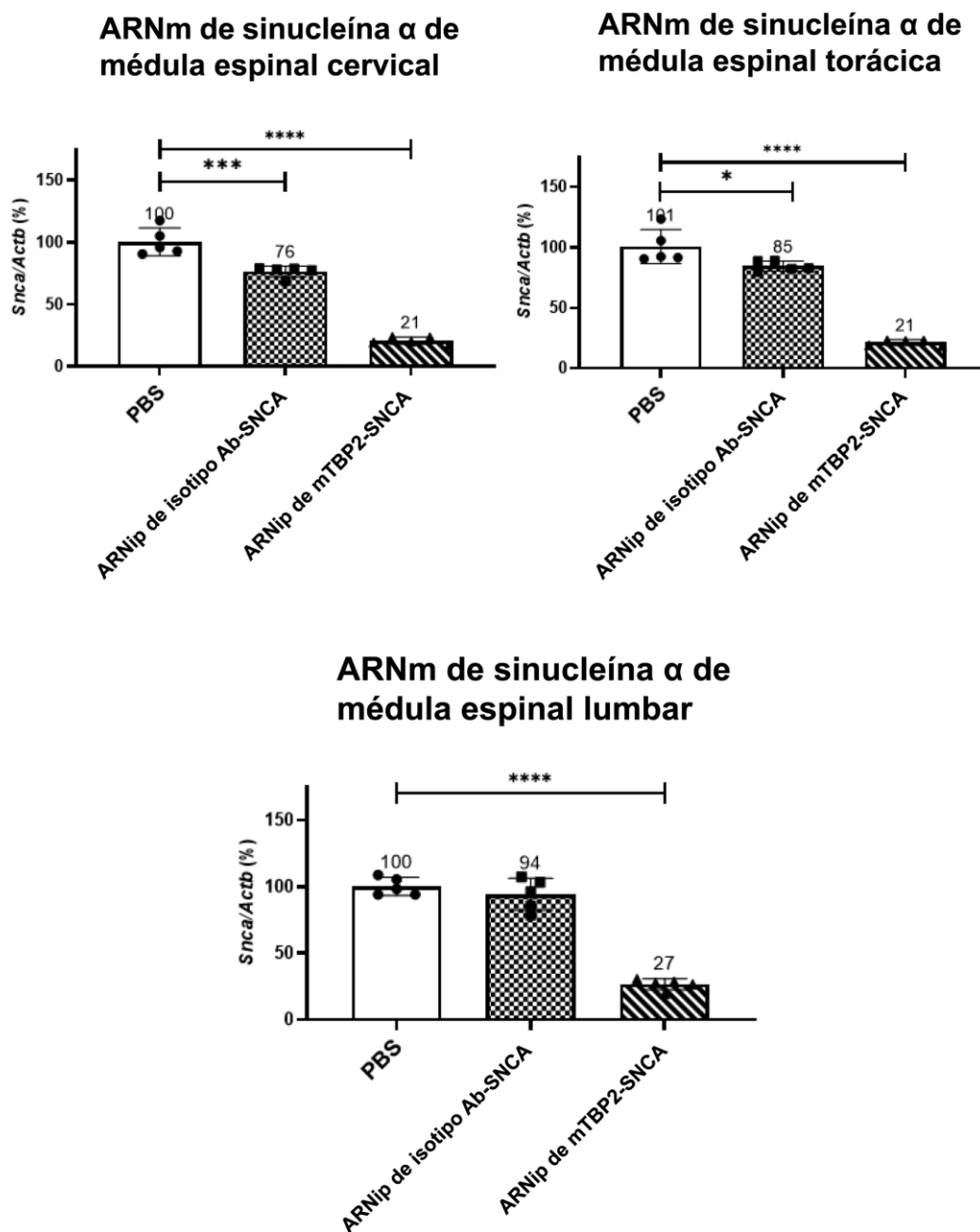


**Figura 6C**

**ARNm de sinucleína  $\alpha$  de  
ganglios de la raíz posterior  
de la región lumbar**

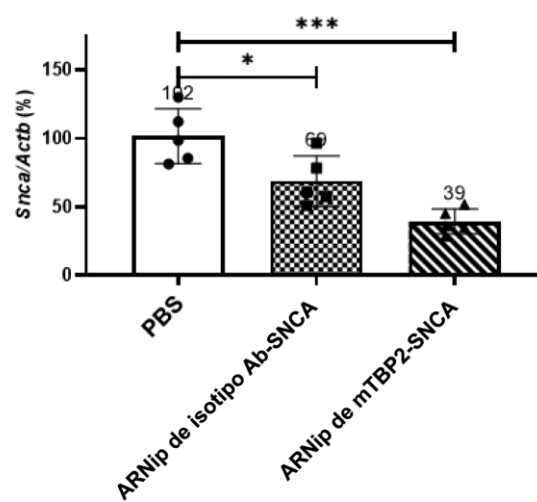
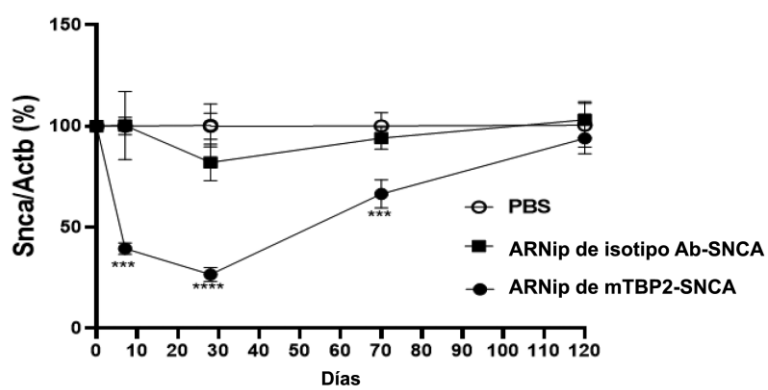


Figura 7A

### Evolución temporal de la PD del ARNm de sinucleína $\alpha$ cerebral



### Evolución temporal de la PD de la proteína sinucleína $\alpha$ cerebral

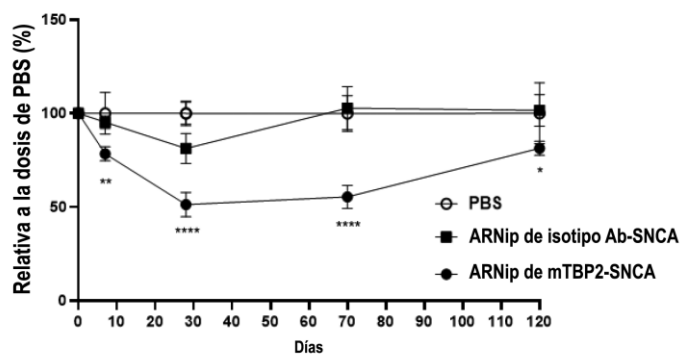
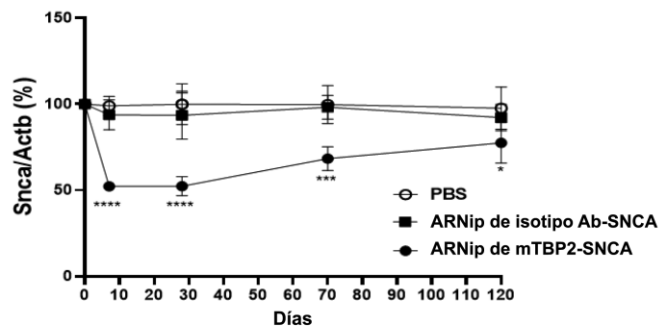
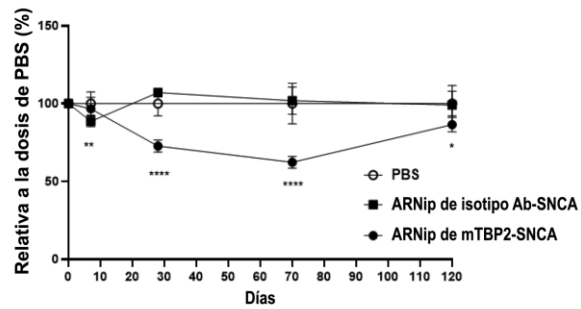


**Figura 7B**

**Evolución temporal de la PD del ARNm de sinucleína  $\alpha$  de médula espinal**



**Evolución temporal de la PD de la proteína sinucleína  $\alpha$  de médula espinal**



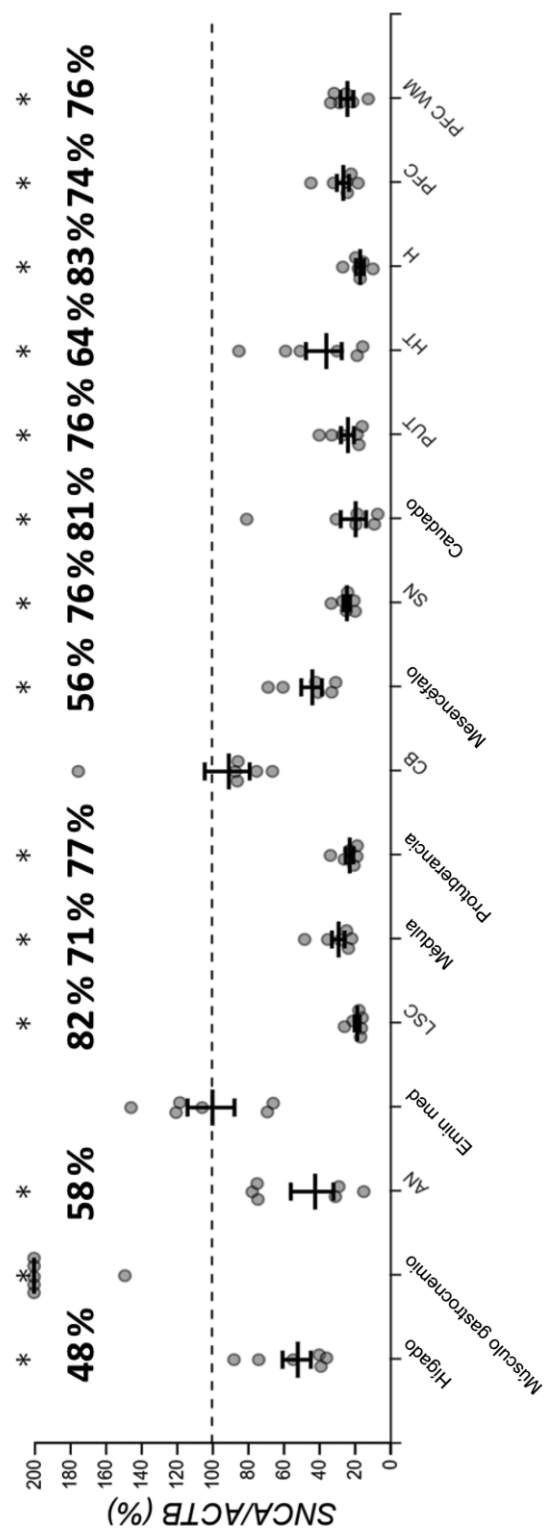


Figura 8A



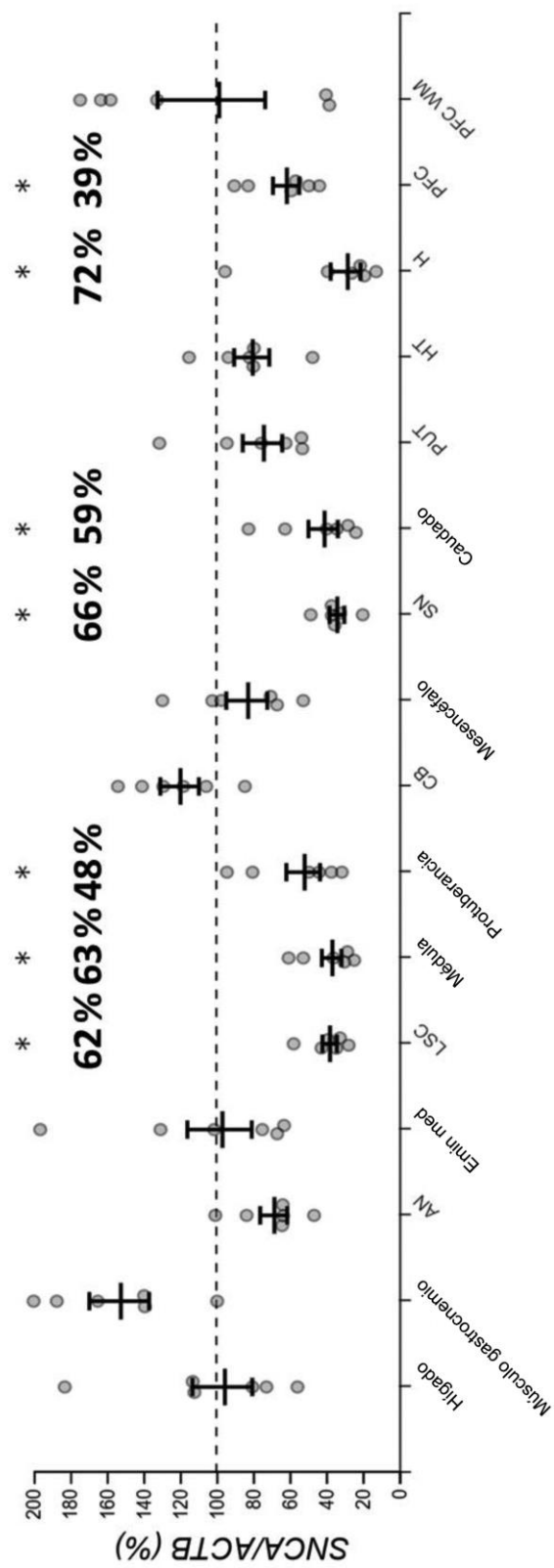


Figura 8B

**Figura 8C**

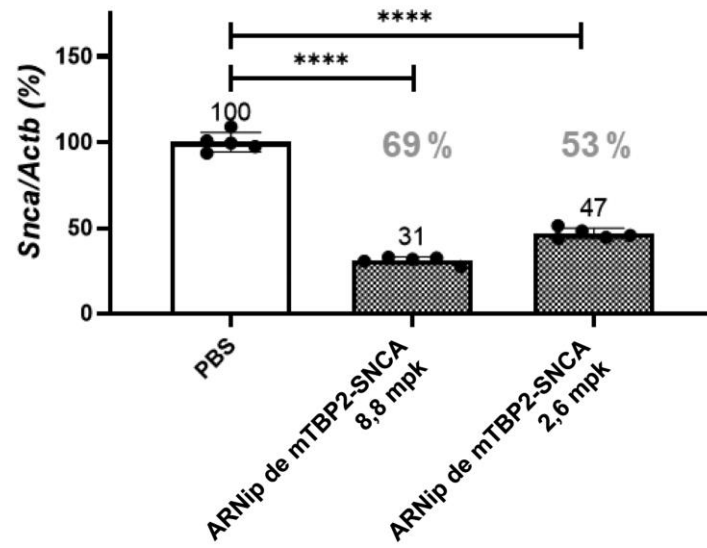


**Figura 9A**

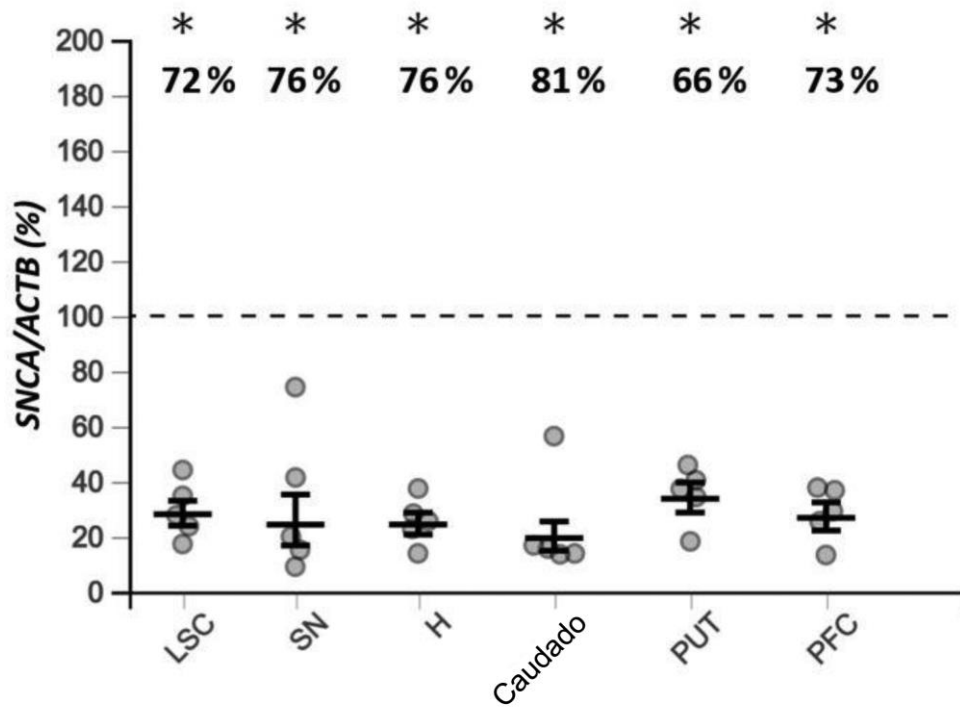


**Figura 9B**

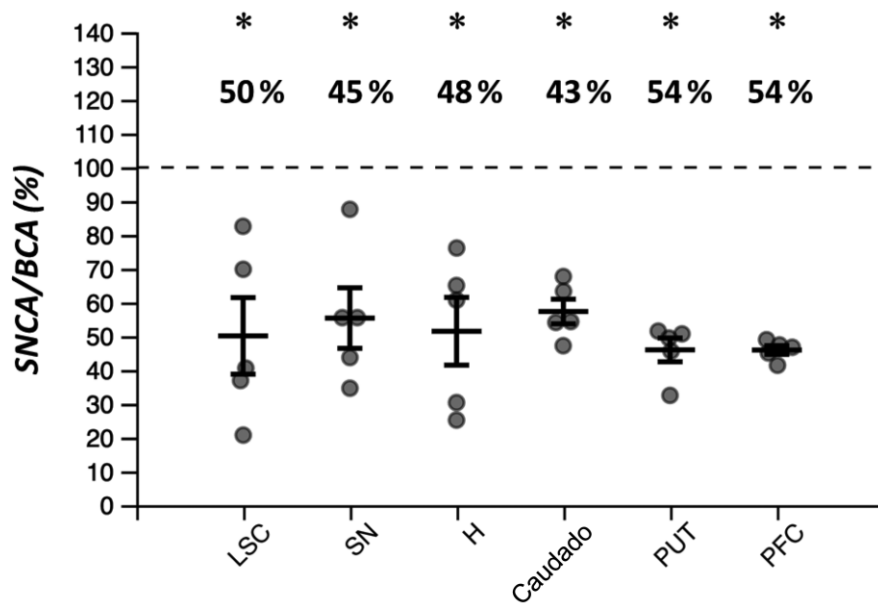


**Figura 9C**

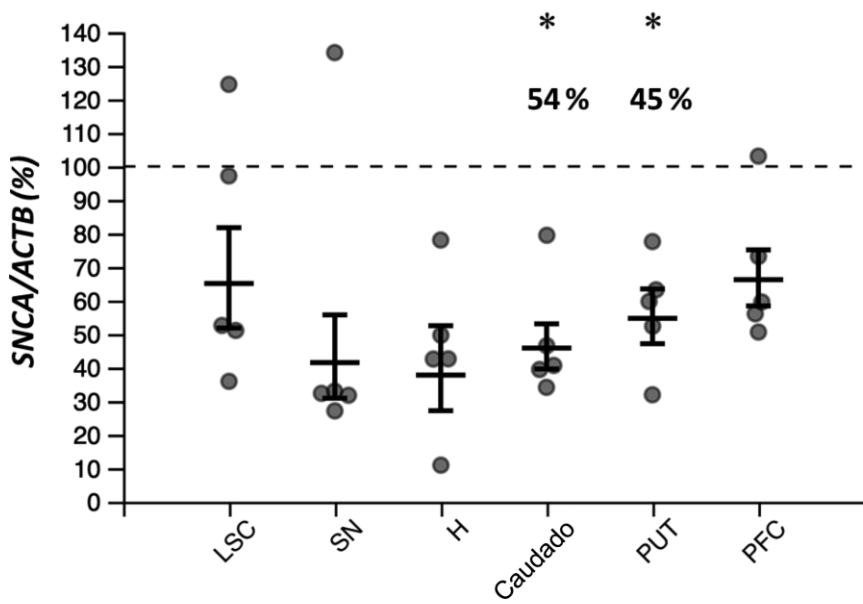


**Figura 9D**

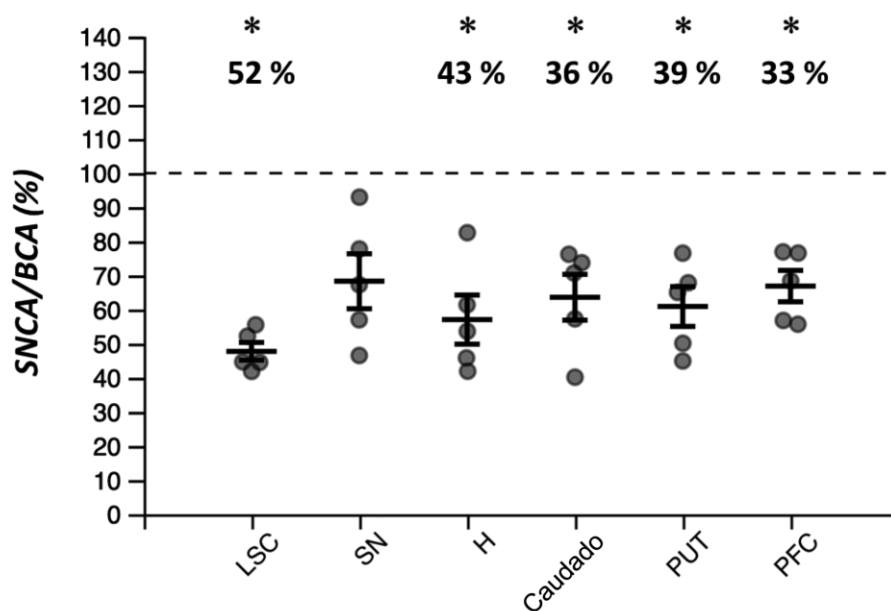


**Figura 9E**

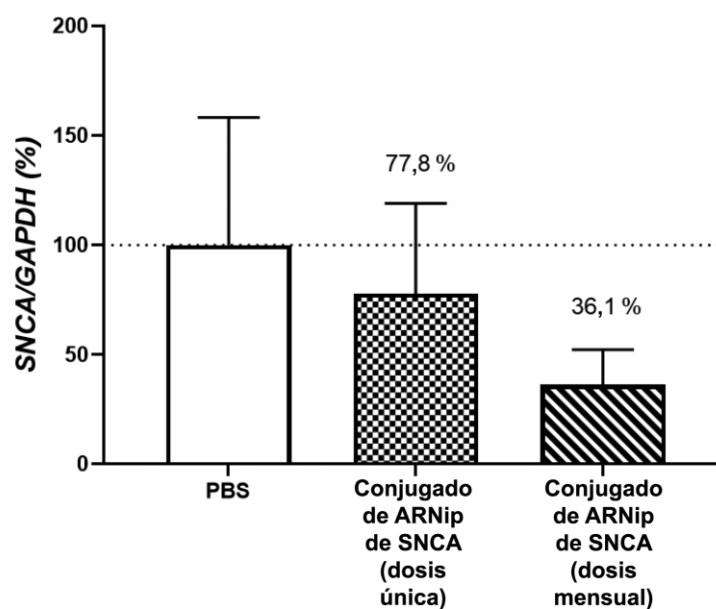


**Figura 10A**

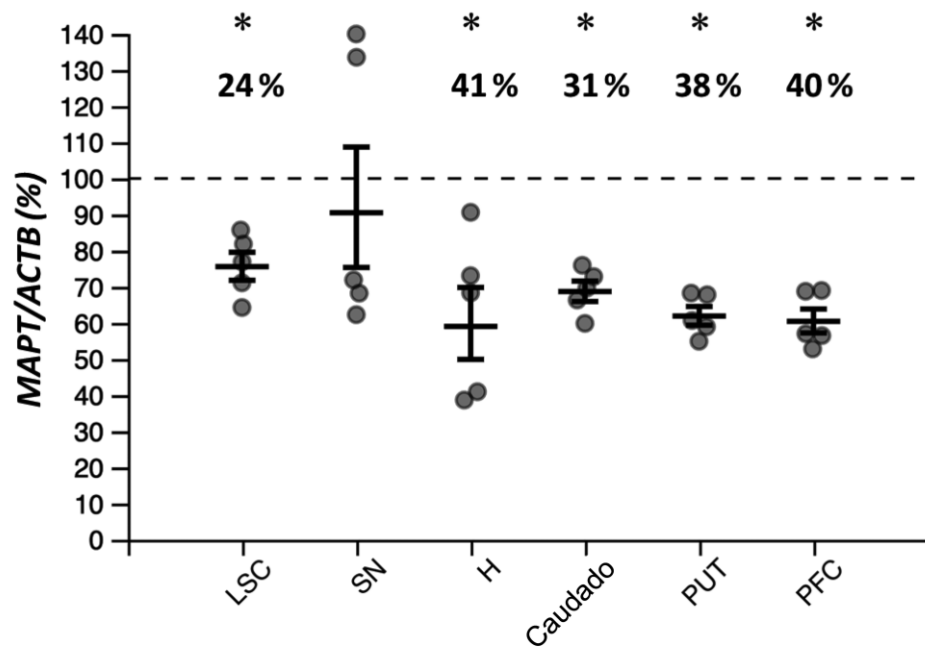


**Figura 10B**

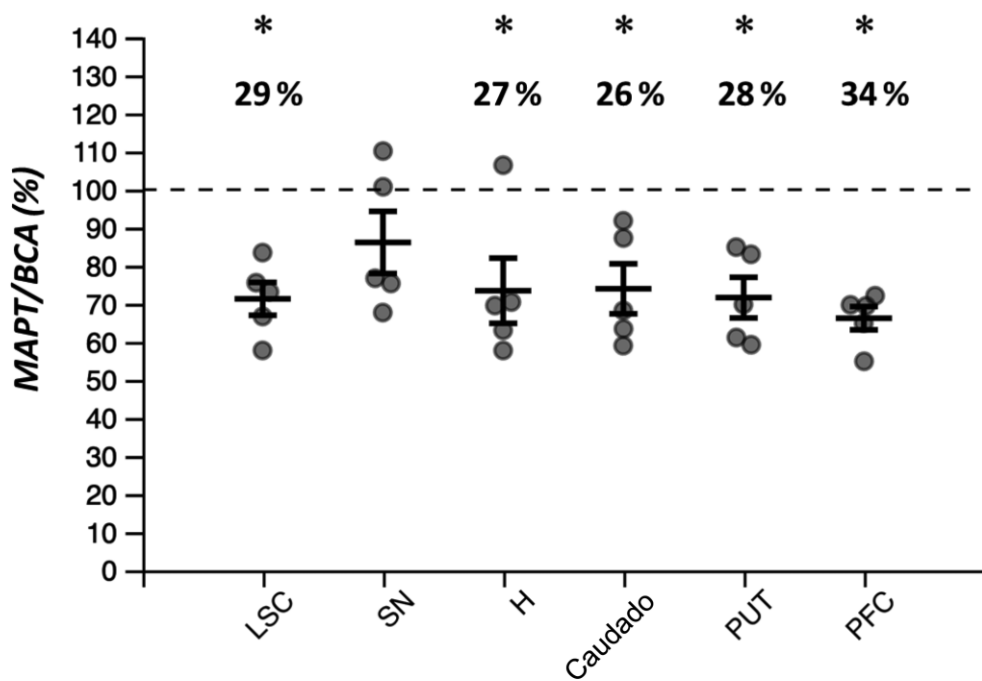


**Figura 11A**

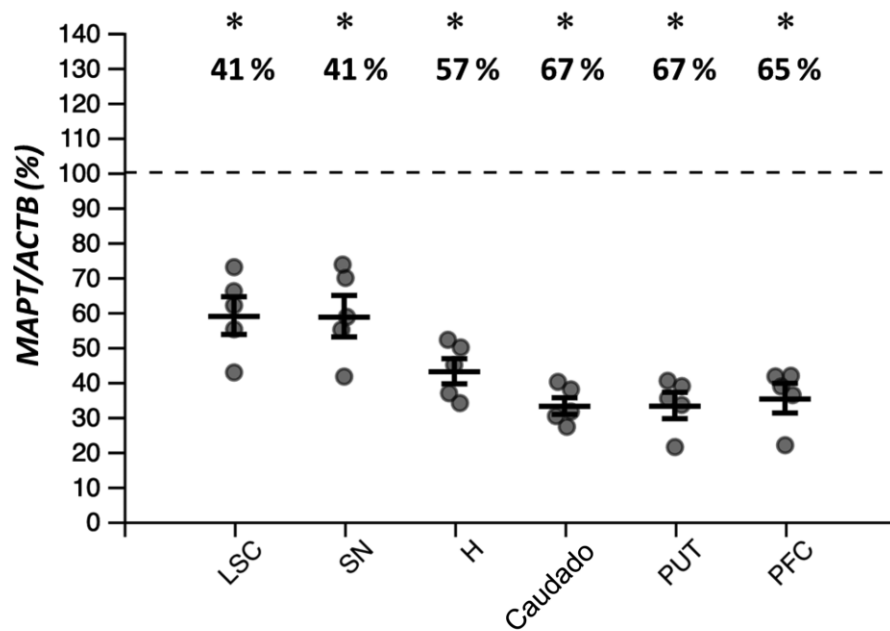


**Figura 11B**

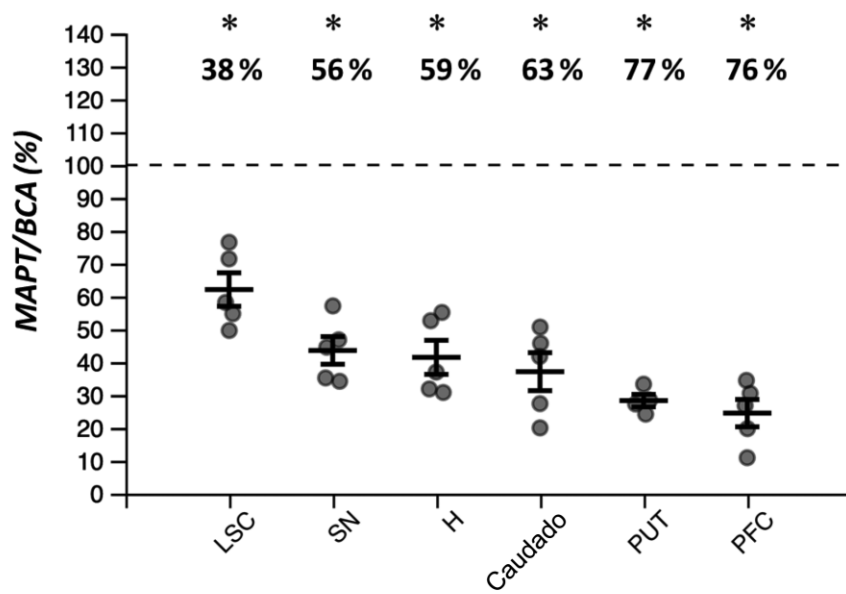


**Figura 12A**

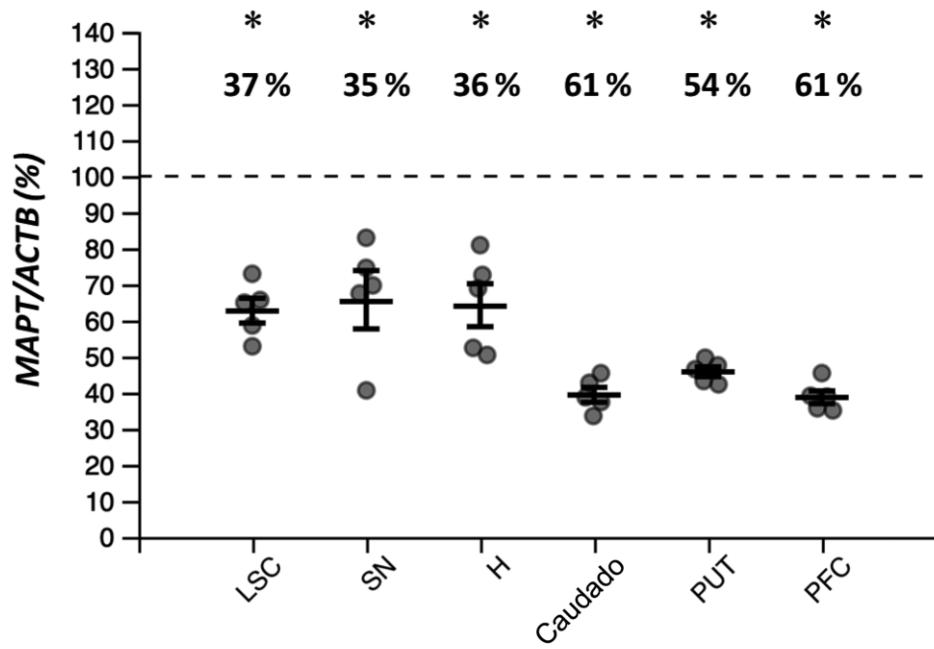


**Figura 12B**

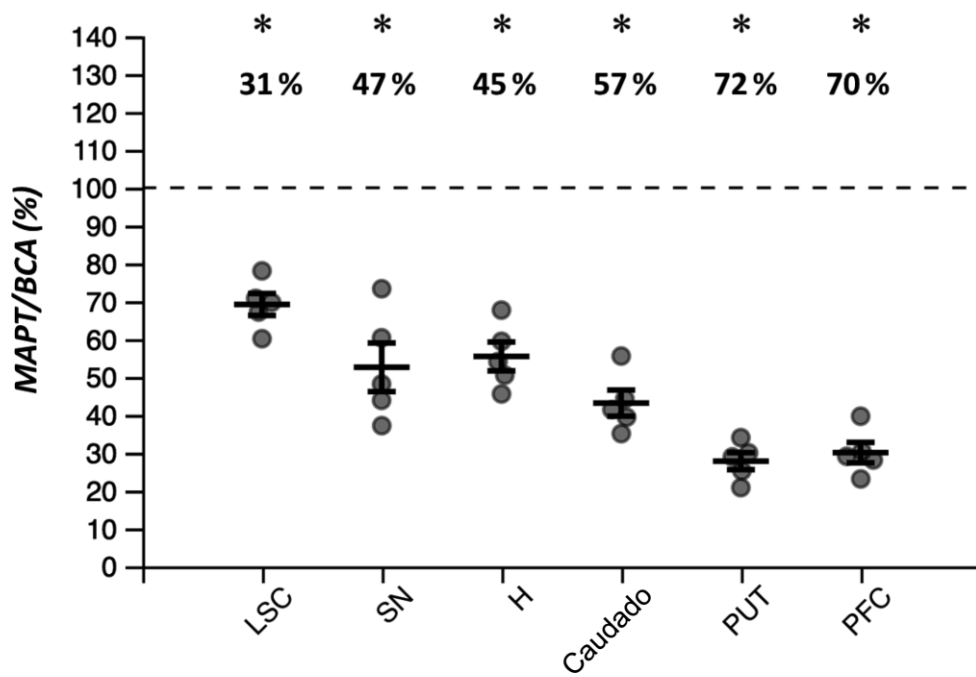


**Figura 13A**

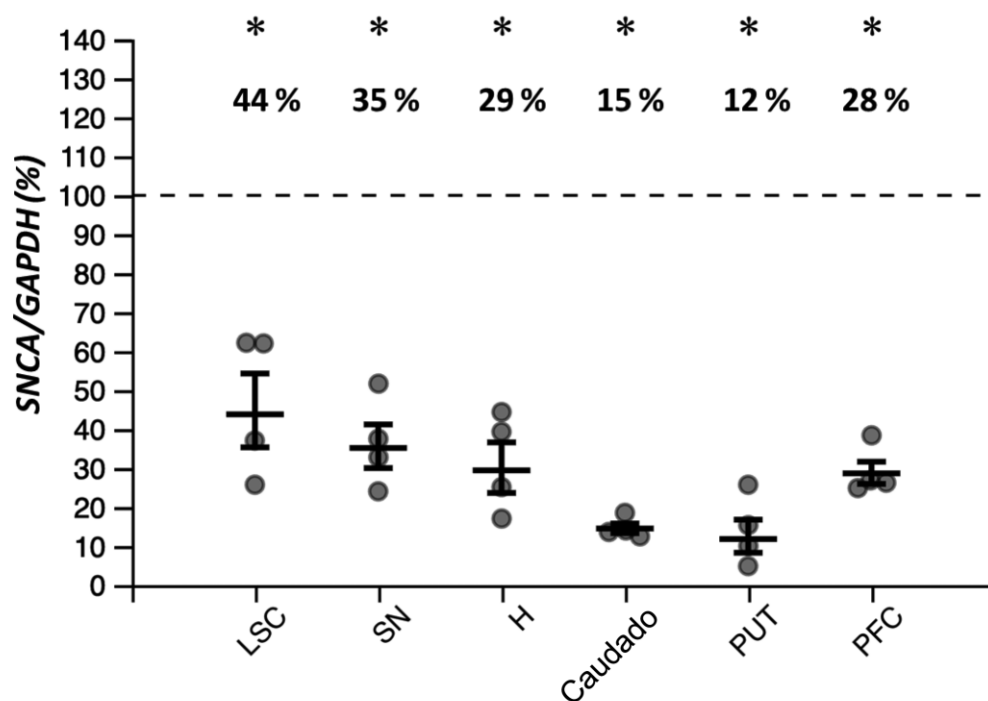


**Figura 13B**

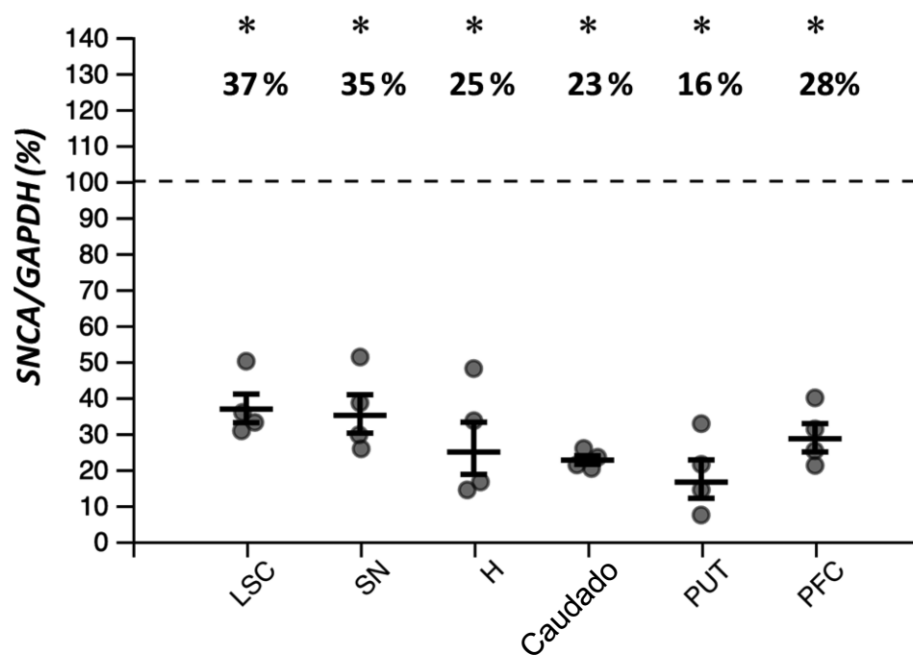




**Figura 13C**

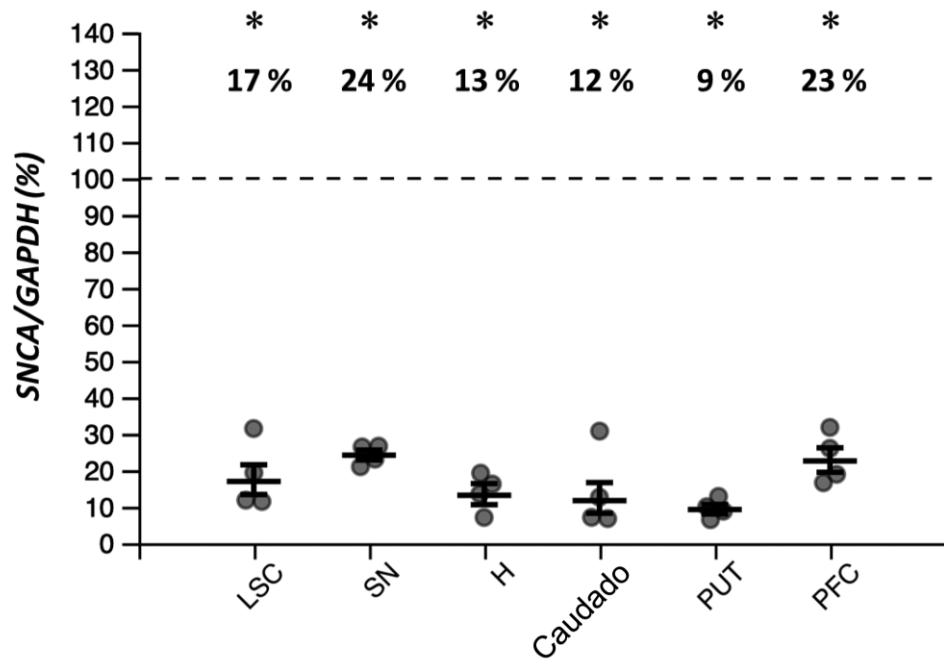


**Figura 13D**

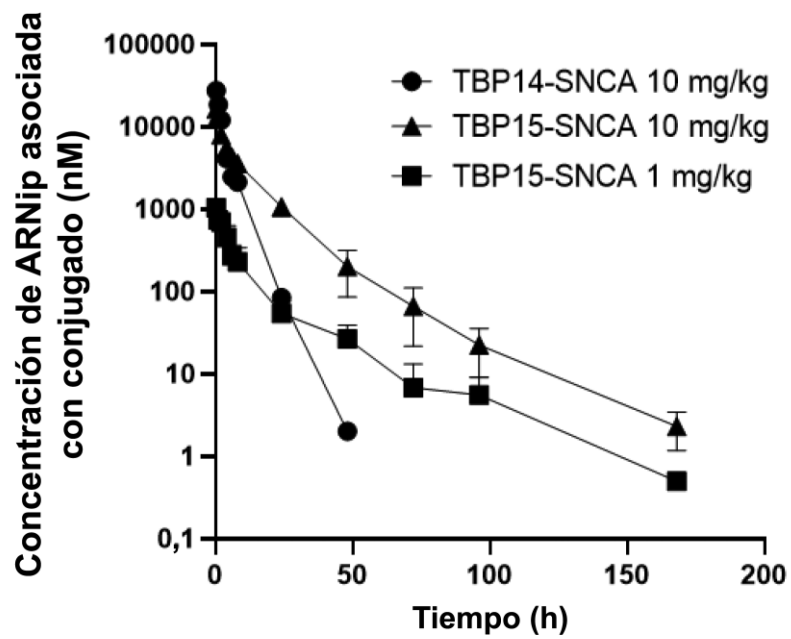


Figura 13E

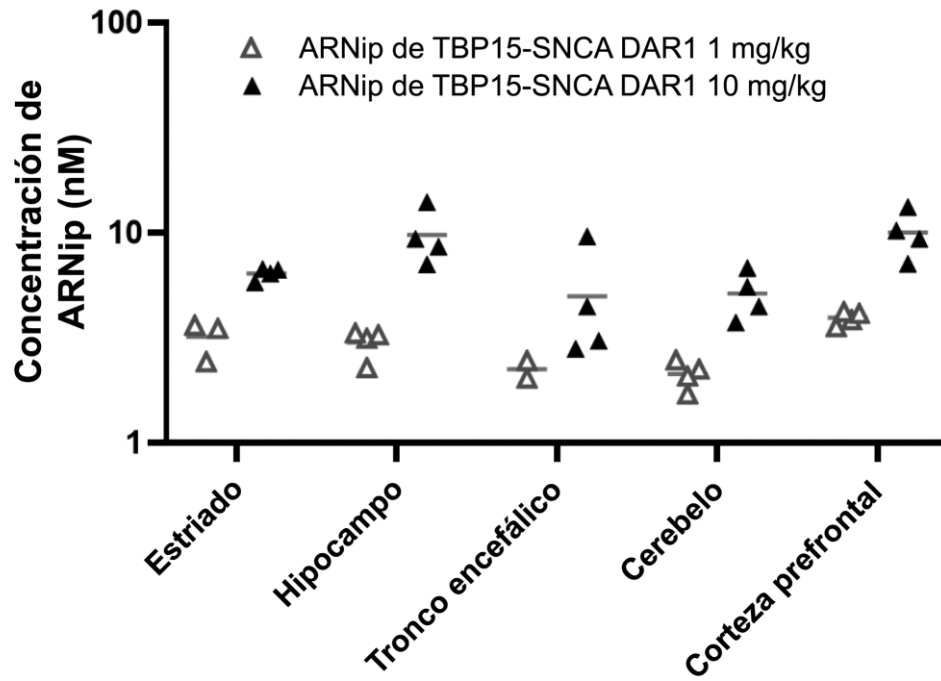


Figura 14A

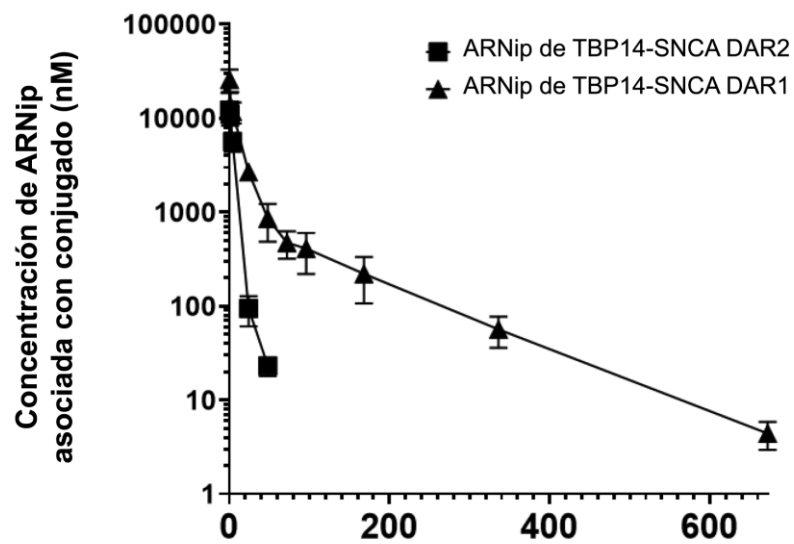


Figura 14B

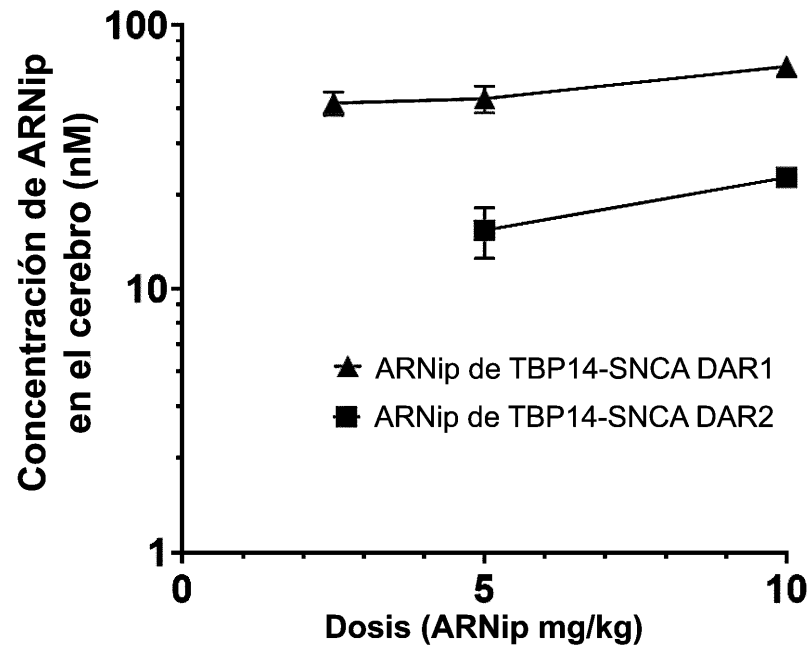


Figura 14C

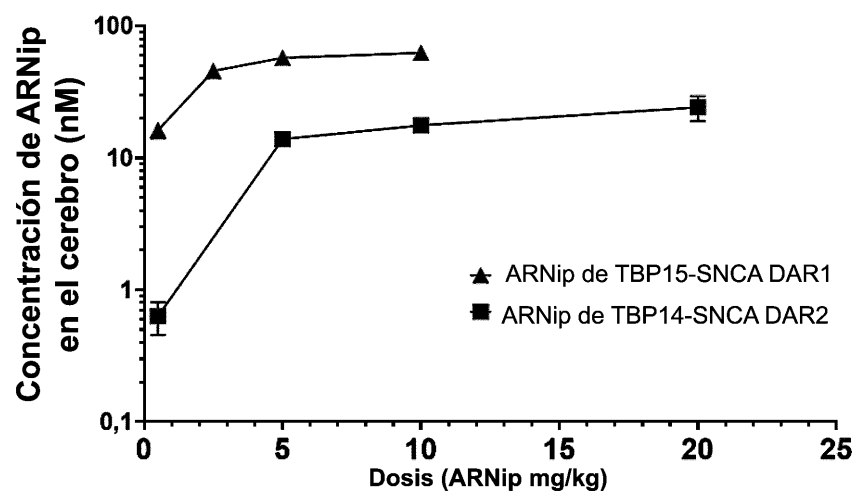


**Figura 14D**

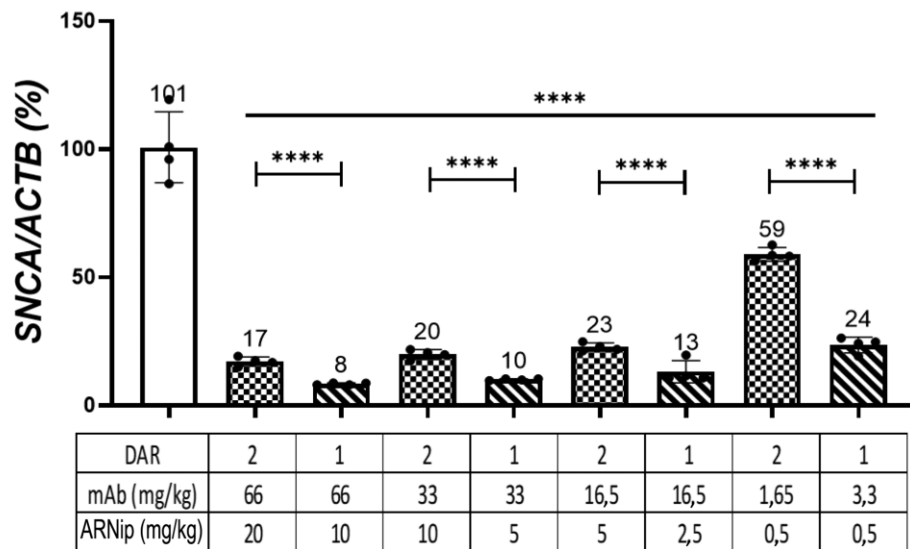


**Figura 14E**

