

DESCRIPCIÓN

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA INHIBIR LA EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA TAU ASOCIADA A MICROTÚBULOS (MAPT)

5 CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere, en parte, a composiciones y métodos que pueden usarse para inhibir la expresión del gen de la proteína tau asociada a microtúbulos (MAPT).

ANTECEDENTES

- 10 La proteína tau asociada a microtúbulos (MAPT) está codificada por el gen MAPT ubicado en el cromosoma 17q21. El gen MAPT tiene 16 exones. El empalme alternativo del ARNm da lugar a seis isoformas de la MAPT con un total de 352-441 aminoácidos. En tres de las seis isoformas de la MAPT, el dominio de unión a microtúbulos de la MAPT contiene tres segmentos repetidos, mientras que el dominio correspondiente contiene cuatro segmentos repetidos en las otras tres
15 isoformas de la MAPT.

- Las transcritos de la MAPT se expresan de manera diferencial en todo el cuerpo, predominantemente en el sistema nervioso central (es decir, el cerebro y la médula espinal) y periférico. La proteína tau de tipo salvaje participa en la estabilización de los microtúbulos de los axones neuronales, el mantenimiento de las espinas dendríticas y la regulación del transporte axonal, la dinámica de los microtúbulos y la división celular. Las variantes patógenas de la
20 MAPT se encuentran en aproximadamente el 10 % de los pacientes con tauopatías primarias. Las variantes son principalmente mutaciones sin sentido y se localizan en los exones 9 a 13 (dominios de unión a microtúbulos), y muchas afectan el empalme alternativo del exón 10. La función principal de tau es unirse y estabilizar los microtúbulos, que son componentes
25 estructurales importantes del citoesqueleto que participan en la mitosis, la citocinesis y el transporte vesicular. Los microtúbulos son esenciales para el mantenimiento de la integridad celular, para facilitar el transporte dentro y entre las células y la división celular. Como tales, los microtúbulos son importantes para el transporte axonal y para mantener la integridad estructural de la célula. La proteína tau se encuentra dentro de las neuronas, predominantemente en los
30 axones. La proteína Tau también se encuentra en otras células neuronales, como los astrocitos y los oligodendrocitos, en los que realiza funciones similares.

Las tauopatías son una clase heterogénea de trastornos neurodegenerativos progresivos

caracterizados patológicamente por la presencia de agregados de Tau en el cerebro. Fenotípicamente, las tauopatías muestran una progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual. Las tauopatías incluyen, entre otras, la enfermedad de Alzheimer, la demencia frontotemporal (DFT) y la parálisis supranuclear progresiva (PSP). Tau es un componente importante de los ovillos neurofibrilares del citoplasma neuronal, un sello distintivo de la enfermedad de Alzheimer. La agregación y el depósito de Tau también se observó en aproximadamente el 50 % de los cerebros de pacientes con enfermedad de Parkinson.

En consecuencia, los agentes de ARNi del gen MAPT descritos en este documento para tratar enfermedades, trastornos y afecciones asociadas con tauopatías, y los tratamientos solo tienen como objetivo aliviar los síntomas y mejorar la calidad de vida del paciente, por ejemplo, que los sujetos que tienen un trastorno asociado a MAPT, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, DFT, PSP u otra tauopatía, puedan tratarse de manera eficaz.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En general, la presente descripción revela nuevos agentes de ARNi específicos del gen MAPT, composiciones que incluyen agentes de ARNi de la MAPT y los métodos para inhibir la expresión de un gen MAPT *in vitro* y/o *in vivo* con el uso de agentes de ARNi de la MAPT y las composiciones que incluyen los agentes de ARNi de la MAPT descritos en el presente documento. Los agentes de ARNi de la MAPT descritos en el presente documento pueden disminuir, inhibir o silenciar de manera selectiva y eficaz la expresión de un gen MAPT en un sujeto, por ejemplo, un sujeto humano o animal.

Según un aspecto de la invención, se proporciona un agente de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de la MAPT, en donde el agente de ARNbc incluye una cadena sentido y una cadena antisentido, en donde la cadena sentido comprende al menos 15 nucleótidos contiguos que difieren en no más de 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de la SEC ID N.º: 1 o 3 y la cadena antisentido comprende al menos 15 nucleótidos contiguos que difieren en no más de 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de la SEC ID N.º: 2 o 4, en donde la cadena sentido y la cadena antisentido pueden ser parcial, casi o totalmente complementarias entre sí.

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye una cadena sentido y una cadena antisentido que forman una región bicatenaria, en donde dicha cadena antisentido comprende una región de complementariedad con un transcrito de ARN de la MAPT, que comprende al menos 15 nucleótidos contiguos que difieren en no más de 1, 2 o 3 nucleótidos de cualquiera de

las secuencias antisentido enumeradas en cualquiera de las Tablas 1 a 3. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye una cadena sentido y una cadena antisentido que forman una región bicatenaria, en donde dicha cadena antisentido comprende una región de complementariedad con un transcrito de ARN de la MAPT que comprende al menos 15 nucleótidos contiguos de cualquiera de las secuencias antisentido enumeradas en cualquiera de las Tablas 1 a 3.

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye una cadena sentido y una cadena antisentido, y las posiciones de nucleótidos 2 a 18 en la cadena antisentido incluyen una región de complementariedad con un transcrito de ARN de la MAPT, en donde la región de complementariedad incluye al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos contiguos que difieren en 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de una de las secuencias antisentido enumeradas en una de las Tablas 1 a 3 y que, opcionalmente, comprenden un ligando diana.

En algunas realizaciones, se proporciona un agente de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de la MAPT, en donde el agente de ARNbc incluye una cadena sentido y una cadena antisentido, en donde la cadena sentido comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos contiguos que difieren en 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de cualquiera de las secuencias de nucleótidos de nucleótidos 165-195, 166-196, 167-197, 165-197, 257-287, 1495-1525, 1525-1555, 1528-1558, 1529-1559, 1525-1559, 1532-1562, 2234-2264, 2235-2265, 2236-2266, 2237-2267, 2238-2268, 2235-2268, 2326-2356, 2327-2357, 2328-2358, 2329-2359, 2330-2360, 2331-2361, 2333-2363, 2334-2364, 2336-2366, 2342-2372, 2326-2372, 2359-2389, 2364-2394, 2359-2394, 2412-2442, 2414-2444, 2412-2444, 2426-2456, 2688-2718, 2775-2805, 2805-2835, 2811-2841, 2835-2865, 2836-2866, 2837-2867, 2838-2868, 2839-2869, 2840-2870, 2841-2871, 2842-2872, 2843-2873, 2845-2875, 2835-2875, 2868-2898, 1577-1607, 2263-2293, 2332-2362, 2338-2368, 2339-2369, 2338-2369, 2706-2736, 2753-2783, 2754-2784, 2757-2787, 2352-2387, 2761-2791, 2778-2808, 2817-2847, 2818-2848, 2819-2849, 2717-2849, 2826-2856, 2833-2863 de SEC ID N.º: 1, y la cadena antisentido comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos contiguos que difieren en 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos correspondiente de SEC ID N.º: 2, en donde la cadena sentido y la cadena antisentido pueden ser parcial, casi o totalmente complementarias entre sí.

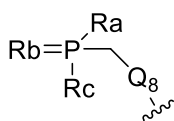
En algunas realizaciones, se proporciona un agente de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de la MAPT, en donde la cadena sentido comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos contiguos que difieren en 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de cualquiera de las secuencias de nucleótidos de los nucleótidos 170-190, 171-191, 172-192, 170-192, 262-282, 1497-1517, 1500-1520, 1530-1550, 1533-1553, 1534-1554, 1530-1554, 1537-1557, 2239-2259, 2240-2260, 2241-2261, 2242-2262, 2243-2263, 2239-2263, 2331-2351, 2332-2352, 2333-2353,

- 2334-2354, 2335-2355, 2336-2356, 2338-2358, 2339-2359, 2341-2361, 2347-2367, 2331-2361, 2331-2367, 2364-2384, 2369-2389, 2364-2389, 2417-2437, 2419-2439, 2417-2439, 2431-2451, 2693-2713, 2780-2800, 2810-2830, 2816-2836, 2840-2860, 2841-2861, 2842-2862, 2843-2863, 2844-2864, 2845-2865, 2846-2866, 2847-2867, 2848-2868, 2850-2870, 2840-2870, 2873-2893, 1582-1602, 2268-2288, 2337-2357, 2343-2363, 2344-2364, 2343-2364, 2711-2731, 2758-2778, 2759-2779, 2762-2782, 2758-2782, 2766-2786, 2783-2803, 2822-2842, 2823-2843, 2824-2844, 2822-2844, 2831-2851, 2838-2858 de SEC ID N.º: 1, y la cadena antisentido comprende al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos contiguos que difieren en 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos correspondiente de SEC ID N.º: 2.
- 10 En algunas realizaciones, el transcrito de ARN de la MAPT es la SEC ID N.º: 1.
- En algunas realizaciones, la cadena antisentido del agente de ARNbc es al menos casi complementaria a cualquier región diana de la SEC ID N.º: 1 y se proporciona en cualquiera de las Tablas 1 a 3. En algunas realizaciones, la cadena antisentido del agente de ARNbc es totalmente complementaria a cualquier región diana de la SEC ID N.º: 1 y se proporciona en cualquiera de las Tablas 1 a 3. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye una secuencia de cadena sentido establecida en cualquiera de las Tablas 1 a 3, en donde la secuencia de cadena sentido es al menos casi complementaria a la secuencia de cadena antisentido en el agente de ARNbc. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc incluye una secuencia de cadena sentido establecida en cualquiera de las Tablas 1 a 3, en donde la secuencia de cadena sentido es totalmente complementaria a la secuencia de cadena antisentido en el agente de ARNbc. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye una secuencia de cadena antisentido establecida en cualquiera de las Tablas 1 a 3. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye las secuencias establecidas como una secuencia de cadena doble en cualquiera de las Tablas 1 a 3.
- 25 En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye al menos un nucleótido modificado. En determinadas realizaciones, todos o casi todos los nucleótidos de la cadena antisentido son nucleótidos modificados. En algunas realizaciones, al menos uno de los nucleótidos modificados comprende los siguientes: un nucleótido 2'-O-metilo, nucleótido 2'-fluoro, nucleótido 2'-desoxi, mimético de nucleótido 2'3'-seco, nucleótido bloqueado, nucleótido de ácido nucleico desbloqueado (UNA), nucleótido de ácido nucleico de glicol (GNA), nucleótido 2'-F-arabino, nucleótido 2'-metoxietilo, nucleótido abásico, ribitol, nucleótido invertido, nucleótido abásico invertido, nucleótido 2'-O-Me invertido, nucleótido 2'-desoxi invertido, nucleótido isomanida, nucleótido modificado con 2'-amino, nucleótido modificado con 2'-alquilo, nucleótido mofolino y nucleótido 3'-O-Me, nucleótido que incluye un grupo 5'-fosforotioato, nucleótido modificado

en 5'-fosfato o un nucleótido terminal unido a un derivado de coleserilo o grupo bisdecilamida de ácido dodecanoico, nucleótido modificado con 2'-amino, una fosforamidita o un nucleótido que incluye una base no natural.

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc comprende además un fosfato o mimético de fosfato. En algunas realizaciones, se introduce un 5'-fosfato o un mimético de 5'-fosfato en el nucleótido 5'-terminal de la cadena antisentido. En algunas realizaciones, el mimético de fosfato es 5'-fosfonato de vinilo (VP).

En determinadas realizaciones, el mimético de fosfato del nucleótido 5'-terminal tiene un fragmento representado por la siguiente fórmula:



en donde: Q₈ es O, S, SO, SO₂, PR¹⁶R¹⁷ o NR¹¹; R¹⁶ y R¹⁷ son independientemente (=O), (=S), OH, SH, alquilo C₁-C₆, NR¹⁸R¹⁹; R¹⁶ y R¹⁷ son independientemente (=O), (=S), OH, SH, alquilo C₁-C₆ o NR¹⁸;

R_a y R_c se seleccionan cada uno independientemente de entre hidroxilo o hidroxilo protegido, sulfhidrilo o sulfhidrilo protegido, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alcoxi C₁-C₆ opcionalmente sustituido, amino protegido u opcionalmente sustituido, nucleósidos naturales o modificados; R_b es O o S o NR¹², R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, un grupo protector de amino; los sustituyentes en el grupo amino sustituido se seleccionan de entre: alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alquenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, sulfinilo, sulfonilo, acetilo;

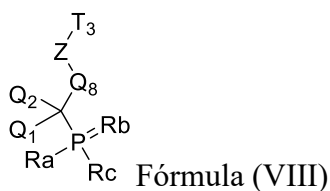
R¹¹, R¹⁸ y R¹⁹ son independientemente H, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alcoxi C₁-C₆ opcionalmente sustituido, metanosulfonilo, grupo ácido sulfónico;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionales seleccionados independientemente de entre: halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alquilsulfhidrilo C₁-C₆, CN;

“” indica el enlace con el remanente del nucleótido 5'-terminal. En determinadas realizaciones, en donde Q₈ está unido al carbono 4' o al carbono 5' del azúcar o de la fracción sustituta de azúcar del nucleótido 5'-terminal.

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye un nucleótido de E-vinilfosfonato en el extremo 5'-terminal de la cadena guía.

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye un nucleótido mimético de 5'-fosfato representado por la fórmula (VIII) o sus estereoisómeros o racematos en el extremo 5'-terminal de la cadena guía:



- 5 en donde: Q₈ es O, S, SO, SO₂, PR¹⁶R¹⁷ o NR¹¹; R¹⁶ y R¹⁷ son independientemente (=O), (=S), OH, SH, alquilo C₁-C₆, NR¹⁸R¹⁹; R_a y R_c se seleccionan cada uno independientemente de entre hidroxilo o hidroxilo protegido, sulfhidrilo o sulfhidrilo protegido, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alcoxi C₁-C₆ opcionalmente sustituido, amino protegido u opcionalmente sustituido, nucleósidos naturales o modificados; y R_b es O o S o NR¹², R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, grupo protector de amino;

Q₁ y Q₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -CN o alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido;

- los sustituyentes en el grupo amino sustituido se seleccionan de entre: alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alquenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, sulfinilo, sulfonilo, acetilo;

R¹¹, R¹⁸ y R¹⁹ son independientemente H, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alcoxi C₁-C₆ opcionalmente sustituido, metanosulfonilo y grupo ácido sulfónico;

Z es un nucleósido que comprende un azúcar o una fracción sustituta de azúcar;

- T₃ es un grupo de enlace internucleotídico que conecta el nucleótido del extremo 5'-terminal de la fórmula (VIII) o su estereoisómero al resto del extremo 5' de la cadena guía;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes seleccionados opcional e independientemente de entre: halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alquilsulfhidrilo C₁-C₆, CN.

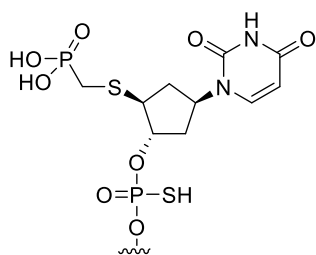
- En una realización particular, en el nucleótido proporcionado, Q₈ en la fórmula (VIII) es S, SO o SO₂. En una realización particular, en el nucleótido proporcionado, Q₁ y Q₂ en la fórmula (VIII) son cada uno independientemente H. En una realización particular, en el nucleótido proporcionado en la fórmula (VIII), en el nucleósido del azúcar o de la fracción sustituta de azúcar, el azúcar o la fracción sustituta de azúcar incluye un anillo de furanosa de 5 miembros, un anillo que no es de furanosa o un sistema carbocíclico de 5 a 6 miembros o un sistema abierto.
- En una realización particular, en el nucleótido proporcionado en la Fórmula (VIII), en el

nucleósido del azúcar o de la fracción sustituta de azúcar, la fracción sustituta de azúcar se selecciona de entre morfolinilo, ciclohexenilo, ciclohexilo, ciclopentilo, piranilo, ciclohexanol. En una realización particular, en el nucleósido del azúcar o de la fracción sustituta de azúcar, la fracción de azúcar es una furanosa. En una realización particular, el nucleósido del azúcar o la

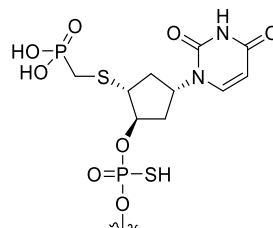
- 5 fracción sustituta de azúcar incluye un análogo de nucleobase desbloqueada (UNA) o un análogo de nucleobase de glicerol (GNA). En una realización particular, los nucleósidos del azúcar o de la fracción sustituta de azúcar incluyen un ácido nucleico bloqueado (LNA) o ácido nucleico con puente (BNA). En una realización particular, se proporcionan nucleótidos de fórmula (VIII), en donde Q₈ está unido al carbono 4' o al carbono 5' del azúcar o de la fracción sustituta de azúcar.
- 10 En realizaciones particulares, se proporciona un nucleótido de fórmula (VIII), en donde R_b es oxígeno. En una realización particular, se proporciona un nucleótido de fórmula (VIII), en donde R_a y R_c se seleccionan cada uno independientemente de entre OH, SH, NH₂, NHSO₂CH₃.

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye un nucleótido mimético de 5'-fosfato en el extremo 5'-terminal de la cadena guía seleccionado de entre las siguientes estructuras o sus

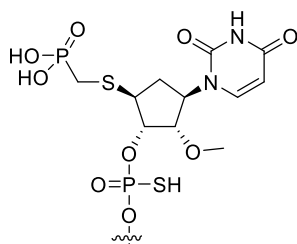
15 estereoisómeros o racematos:



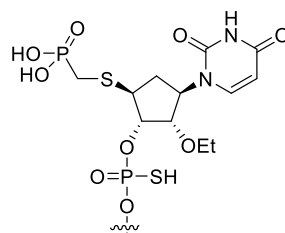
Phos-15-1*,



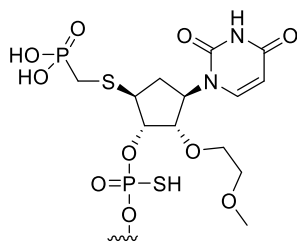
Phos-15-2*,



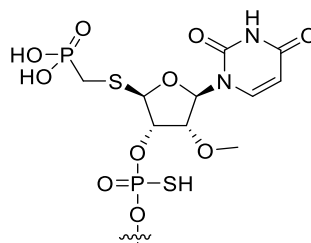
Phos-43*,



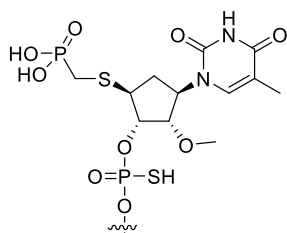
Phos-44*,



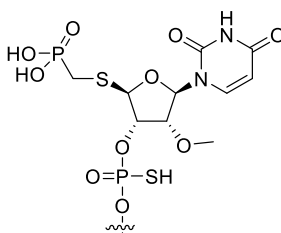
Phos-45*,



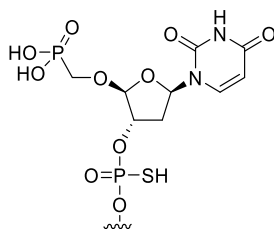
Phos-46*,



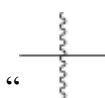
Phos-47*,



Phos-53*,

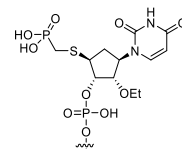


Phos-16*, o sus estereoisómeros o racematos,



“ ” representa la fracción de enlace con el resto del extremo 5'-terminal de la cadena guía.

En determinadas realizaciones, el grupo de enlace internucleotídico se selecciona independientemente de: un grupo de enlace fosfodiéster, un grupo de enlace fosfotriéster o un grupo de enlace fosforotioato, un grupo de enlace fosforoditioato, un grupo de enlace alquilfosfonato, un grupo de enlace aminofosfonato, un grupo de enlace fosfonato, un grupo de enlace fosfinato, un grupo de enlace fosforotioamidado y grupos de enlace fosforamidato. Para ilustrar el nucleótico mimético de 5' fosfato Phos-15-1*, donde el enlace fosfodiéster se



reemplaza con un enlace fosforotioato, se presentan las siguientes estructuras Phos-15-1.

En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc incluye al menos un enlace internucleosídico fosforotioato. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye al menos un enlace internucleosídico fosforotioato. En algunas realizaciones, la cadena antisentido incluye al menos un enlace internucleosídico fosforotioato. En algunas realizaciones, la cadena sentido incluye 1, 2, 3, 4, 5 o 6 enlaces internucleosídicos fosforotioato. En determinadas realizaciones, la cadena antisentido incluye 1, 2, 3, 4, 5 o 6 enlaces internucleosídicos fosforotioato. En algunas realizaciones, el extremo 5'-terminal de la cadena antisentido incluye 2 enlaces internucleosídicos fosforotioato. En algunas realizaciones, el extremo 3'-terminal de la cadena antisentido incluye 2 enlaces internucleosídicos fosforotioato. En algunas realizaciones, el extremo 5'-terminal de la cadena antisentido y el extremo 3'-terminal de la cadena antisentido incluyen independientemente 2 enlaces internucleosídicos fosforotioato.

En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc comprende además una modificación quiral

terminal que se produce en el primer enlace internucleotídico del extremo 3'-terminal de la cadena antisentido, que tiene el átomo de fósforo del enlace internucleosídico fosforotioato en una configuración Sp. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc comprende además una modificación quiral terminal que se produce en el primer enlace internucleosídico del extremo 5'-terminal de la cadena antisentido, que tiene el átomo de fósforo del enlace internucleosídico fosforotioato en una configuración Rp. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc comprende además una modificación quiral terminal que se produce en el primer enlace internucleotídico del extremo 5'-terminal de la cadena sentido, que tiene el átomo de fósforo del enlace internucleosídico fosforotioato en una configuración Rp o configuración Sp. En otra realización, el agente de ARNbc comprende además una modificación quiral terminal que se produce en el primer y segundo enlace internucleotídico del extremo 3'-terminal de la cadena antisentido, que tiene el átomo de fósforo del enlace internucleotídico fosforotioato en una configuración Sp, una modificación quiral terminal que se produce en el primer enlace internucleotídico del extremo 5'-terminal de la cadena antisentido, que tiene el átomo de fósforo del enlace internucleosídico fosforotioato en una configuración Rp, y una modificación quiral terminal que se produce en el primer enlace internucleotídico del extremo 5'-terminal de la cadena sentido, que tiene el átomo de fósforo del enlace internucleosídico fosforotioato en una configuración Rp o Sp.

En una realización, una o más fracciones lipófilas se conjugan a una o más posiciones internas en al menos una hebra, por ejemplo a través de un conector o portador. En una realización, las posiciones internas incluyen todas las posiciones, excepto las dos posiciones terminales de cada extremo de al menos una cadena. En otra realización, las posiciones internas incluyen todas las posiciones, excepto las tres posiciones terminales de cada extremo de al menos una cadena. En una realización, las posiciones internas excluyen una región del sitio de escisión de la cadena sentido. En una realización, las posiciones internas excluyen una región del sitio de escisión de la cadena antisentido. En una realización, una o más fracciones lipófilas se conjugan con una o más de las posiciones internas seleccionadas del grupo que consiste en las posiciones 4 a 8 y 13 a 18 de la cadena sentido contando desde el extremo 3'-terminal de la cadena sentido, y las posiciones 6 a 10 y 15 a 18 de la cadena antisentido contando desde el extremo 5'-terminal de la cadena antisentido. En otra realización, una o más fracciones lipófilas se conjugan con una o más de las posiciones internas seleccionadas del grupo que consiste en las posiciones 5, 6, 15, 16 y 17 en la cadena sentido contando desde el extremo 3'-terminal de la cadena sentido, y las posiciones 15 y 17 en la cadena antisentido contando desde el extremo 5'-terminal de la cadena antisentido. En una realización, las posiciones internas en la región bicatenaria excluyen una región del sitio de escisión de la cadena sentido. En una realización, la cadena sentido tiene 21

nucleótidos de longitud, la cadena antisentido tiene 21 nucleótidos de longitud y la fracción lipófila se conjuga con la posición 21, posición 20, posición 15, posición 1, posición 7, posición 6 o posición 2 de la cadena sentido o la posición 16 de la cadena antisentido contando desde el extremo 5'-terminal de la cadena antisentido. En una realización, la fracción lipófila se conjuga con la posición 1, posición 2, posición 7, posición 21 o posición 15 de la cadena sentido contando desde el extremo 3'-terminal de la cadena sentido. En otra realización, la fracción lipófila se conjuga con la posición 1, posición 2 o posición 7 de la cadena sentido contando desde el extremo 3'-terminal de la cadena sentido. Y en aún otra realización, la fracción lipófila se conjuga con la posición 2 o posición 7 de la cadena sentido contando desde el extremo 3'-terminal de la cadena sentido. En una realización, la fracción lipófila se conjuga con la posición 16 de la cadena antisentido contando desde el extremo 5'-terminal de la cadena antisentido.

En una realización, la fracción lipófila es un compuesto alifático, alicíclico o polialicíclico. En una realización, la fracción lipófila se selecciona del grupo que consiste en lípidos, colesterol, ácido retinoico, ácido cólico, ácido adamantano acético, ácido 1-pireno butírico, dihidrotestosterona, 1,3-bis-O(hexadecil)glicerol, geraniloxihexianol, hexadecilglicerol, borneol, mentol, 1,3-propanodiol, grupo heptadecilo, ácido palmítico, ácido mirístico, ácido O3-(oleoil) litocólico, ácido O3-(oleoil)colénico, dimetoxitritilo o fenoxazina. En una realización, la fracción lipófila contiene una cadena de hidrocarburos C₄-C₃₀ saturada o insaturada y un grupo funcional opcionalmente sustituido seleccionado del grupo que consiste en hidroxilo, amina, ácido carboxílico, sulfonato, fosfato, tiol, azida y alquino. En una realización, la fracción lipófila contiene una cadena de hidrocarburos C₆-C₁₈ saturada o insaturada. En una realización, la fracción lipófila contiene una cadena de hidrocarburos C₁₆ saturada o insaturada. En una realización, la cadena de hidrocarburos C₁₆ saturada o insaturada se conjuga con la posición 15 o 16 contando desde el extremo 5'-terminal de la cadena. En una realización, la fracción lipófila se conjuga a través de un portador que reemplaza uno o más nucleótidos en posiciones internas o en la región bicatenaria. En una realización, el portador es un grupo cíclico seleccionado del grupo que consiste en pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, [1,3]dioxolanilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo, quinoxalinilo, piridazinonilo, tetrahidrofuranilo y decalinilo; o es una fracción acíclica basada en una estructura principal de serinol o una estructura principal de dietanolamina. En una realización, la fracción lipófila se conjuga con el agente de ARNi bicatenario a través de un conector que contiene un enlace éter, tioéter, urea, carbonato, amina, amida, maleimida-tioéter, disulfuro, fosfodiéster, sulfonamida, un producto de una reacción de clic o carbamato. En una realización, la fracción lipófila se conjuga con una nucleobase, una fracción de azúcar o un enlace internucleosídico. En una realización, la fracción lipófila se

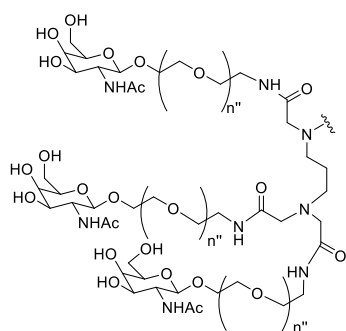
conjuga a través de un bioconector seleccionado del grupo que consiste en ADN, ARN, disulfuro, amida, monosacáridos funcionalizados u oligosacáridos de galactosamina, glucosamina, glucosa, galactosa, manosa y combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, todos o casi todos los nucleótidos de la cadena sentido y la cadena antisentido son nucleótidos modificados. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende 15 o más nucleótidos modificados seleccionados independientemente de entre un nucleótido con 2'-O-metilo, un nucleótido con 2'-fluoro y un nucleótido modificado con UNA, en donde menos de 6 nucleótidos modificados son nucleótidos con 2'-fluoro. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende 3 o 5 nucleótidos con 2'-fluoro, preferentemente, la cadena antisentido comprende 5 nucleótidos con 2'-fluoro. En algunas realizaciones, la cadena sentido comprende 15 o más nucleótidos modificados seleccionados independientemente de entre un nucleótido 2'-O-metilo y un nucleótido 2'-fluoro, en donde menos de 4 nucleótidos modificados son nucleótidos 2'-fluoro. En determinadas realizaciones, la cadena sentido comprende 3 nucleótidos con 2'-fluoro. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende 15 o más nucleótidos modificados seleccionados independientemente de entre un nucleótido 2'-O-metilo y un nucleótido 2'-fluoro, en donde al menos 14 nucleótidos modificados son nucleótidos 2'-O-metilo y los nucleótidos en las posiciones 2, 5, 7, 11, 12, 14, 16 y/o 18 contando desde la primera posición complementaria del extremo 5'-terminal de la cadena antisentido son independientemente un nucleótido con 2'-fluoro. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende al menos un nucleótido modificado con UNA y 5 nucleótidos con 2'-fluoro. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende un nucleótido modificado con UNA en la posición 7 y 5 nucleótidos con 2'-fluoro en las posiciones 2, 5, 12, 14 y 16, contando desde la primera posición complementaria del extremo 5', y el resto son nucleótidos con 2'-O-metilo. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende un nucleótido modificado con UNA en la posición 7 y 5 nucleótidos con 2'-fluoro en las posiciones 2, 5, 12, 14 y 18, contando desde la primera posición complementaria del extremo 5', y el resto son nucleótidos con 2'-O-metilo. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende un nucleótido modificado con UNA en la posición 7 y 5 nucleótidos con 2'-fluoro en las posiciones 2, 5, 11, 14 y 16, contando desde la primera posición complementaria del extremo 5', y el resto son nucleótidos con 2'-O-metilo. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende 5 nucleótidos con 2'-fluoro en las posiciones 2, 7, 12, 14 y 16, contando desde la primera posición complementaria del extremo 5', y el resto son nucleótidos con 2'-O-metilo. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende 5 nucleótidos con 2'-fluoro en las posiciones 2, 7, 11, 14 y 16, contando desde la primera posición complementaria del extremo 5', y el resto son nucleótidos con 2'-O-metilo. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende 5

nucleótidos con 2'-fluoro en las posiciones 2, 5, 12, 14 y 16, contando desde la primera posición complementaria del extremo 5', y el resto son nucleótidos con 2'-O-metilo. En algunas realizaciones, la cadena antisentido comprende 5 nucleótidos con 2'-fluoro en las posiciones 2, 5, 11, 14 y 16, contando desde la primera posición complementaria del extremo 5', y el resto son nucleótidos con 2'-O-metilo. En algunas realizaciones, la cadena sentido comprende 15 o más nucleótidos modificados seleccionados independientemente de entre un nucleótido 2'-O-metilo y un nucleótido 2'-fluoro, preferentemente, en donde al menos 18 nucleótidos modificados son nucleótidos 2'-O-metilo y los nucleótidos en las posiciones 9, 11 y/o 13, contando desde la primera posición complementaria del extremo 3'-terminal de la cadena sentido, son nucleótidos 2'-fluoro. En algunas realizaciones, la cadena sentido comprende al menos 18 nucleótidos modificados que son nucleótidos con 2'-O-metilo y los nucleótidos en las posiciones 8, 11 y/o 13, contando desde la primera posición complementaria del extremo 3'-terminal de la cadena sentido, son nucleótidos con 2'-fluoro. En algunas realizaciones, la cadena sentido modificada es una secuencia de cadena sentido modificada establecida en una de las Tablas 2 a 3. En algunas realizaciones, la cadena antisentido modificada es una secuencia de cadena antisentido modificada establecida en una de las Tablas 2 a 3.

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye al menos un nucleótido modificado y, además, incluye uno o más grupos diana o grupos de enlace. En algunas realizaciones, uno o más grupos diana o grupos de enlace se conjugan con la cadena sentido. En algunas realizaciones, el grupo diana o grupo de enlace incluye N-acetil-galactosamina (GalNAc).

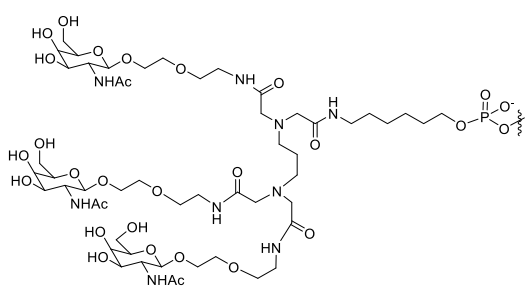
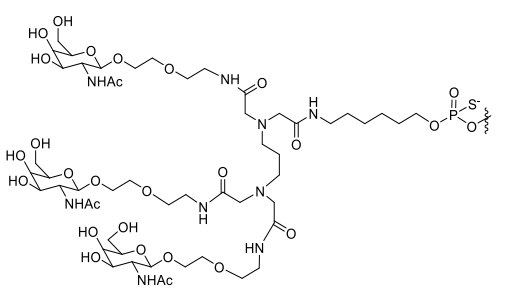
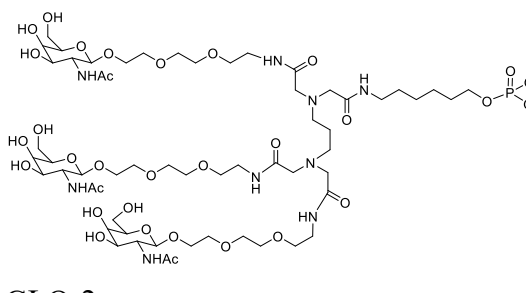
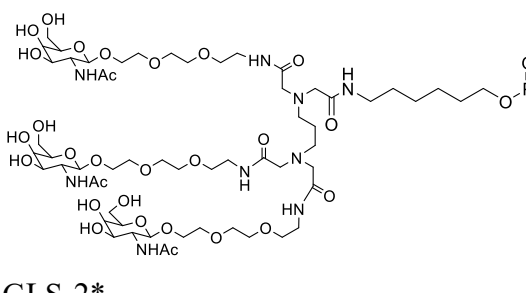
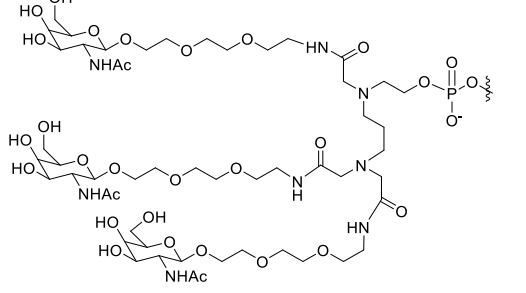
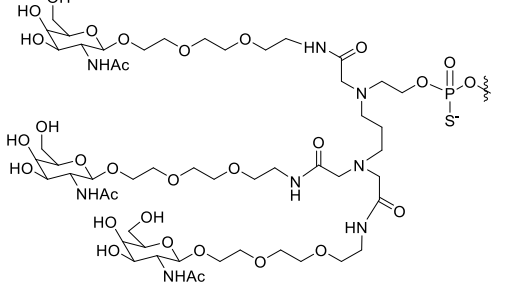
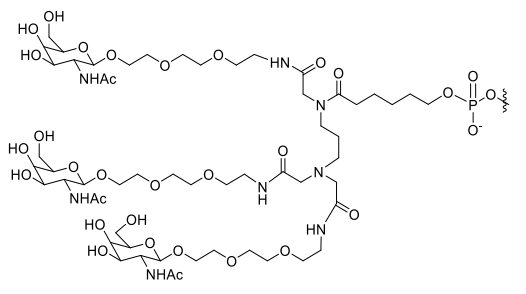
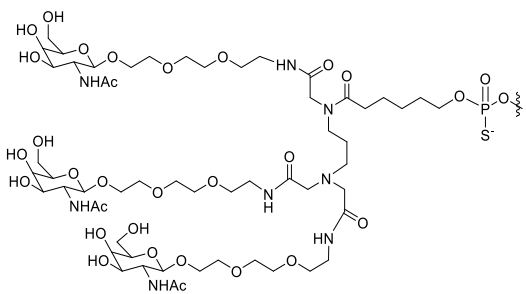
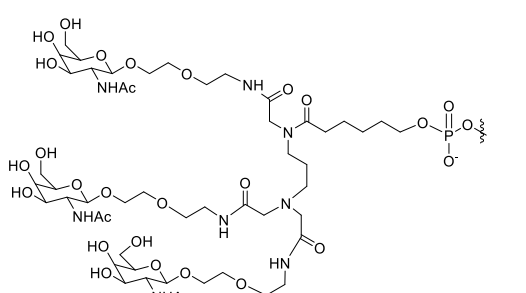
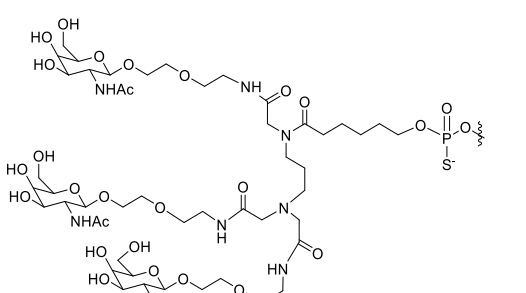
En algunas realizaciones, el grupo diana incluye la siguiente estructura:

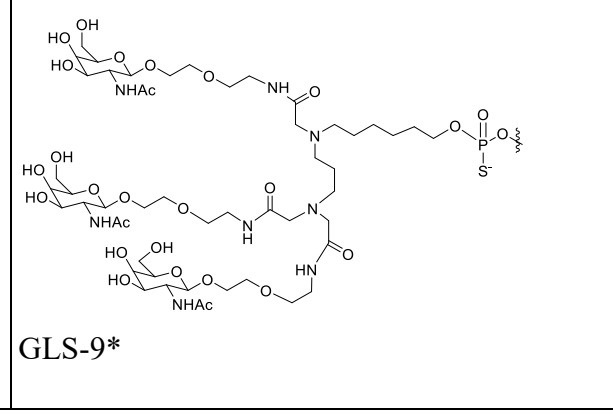
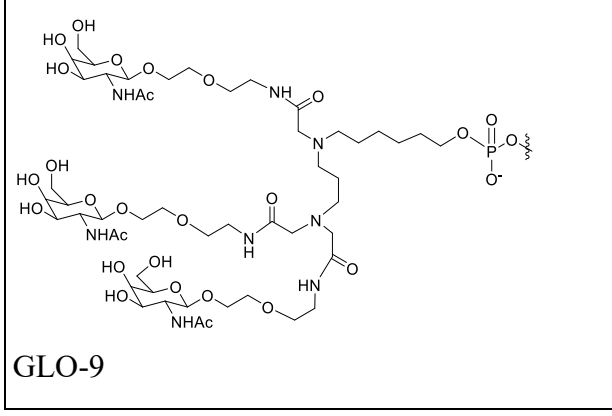
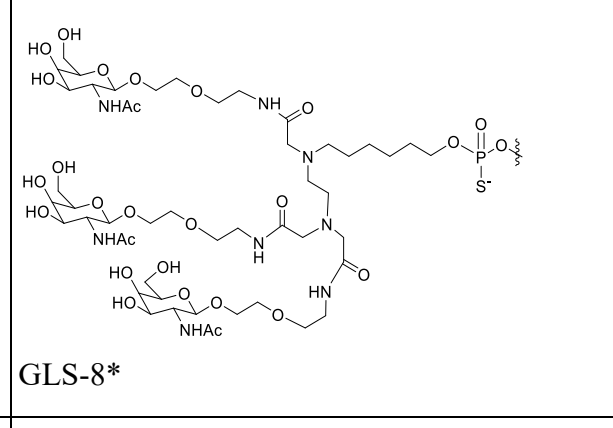
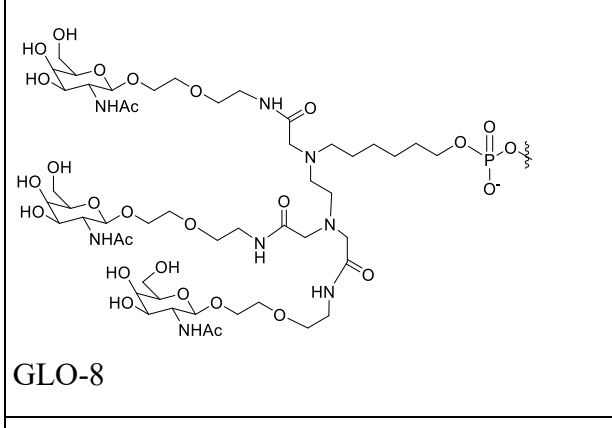
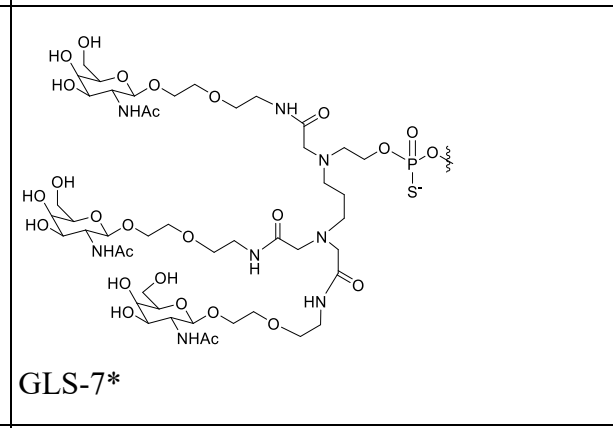
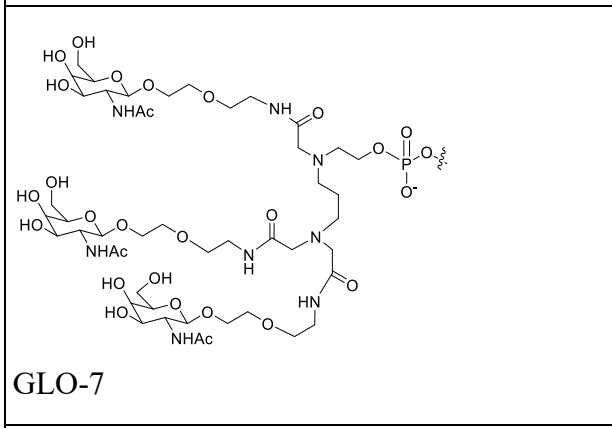
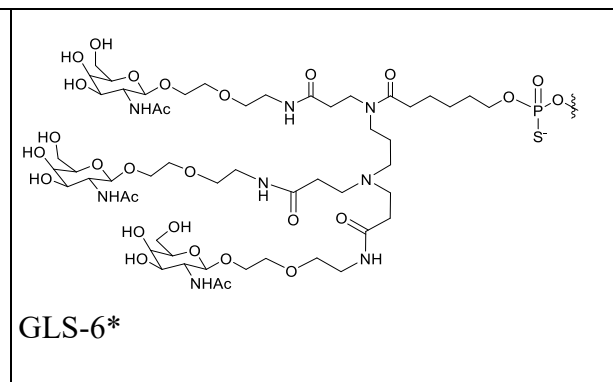
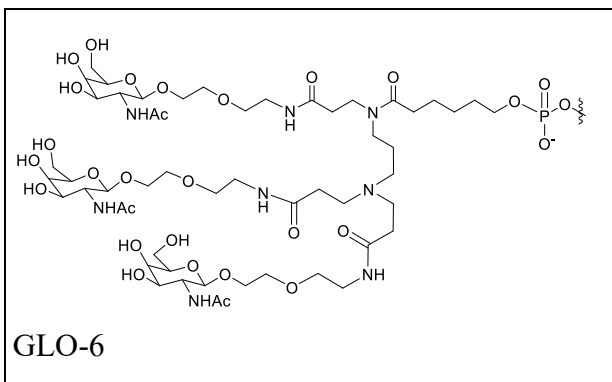


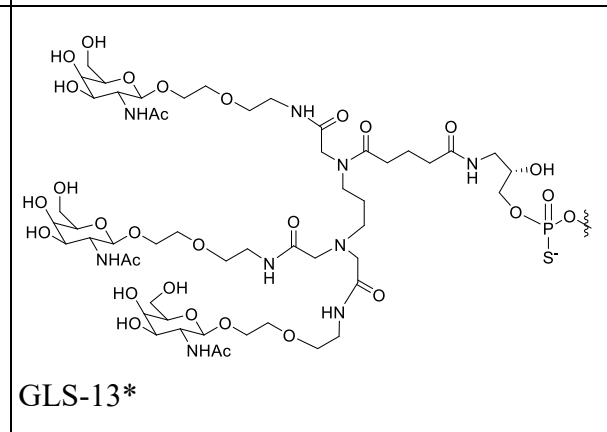
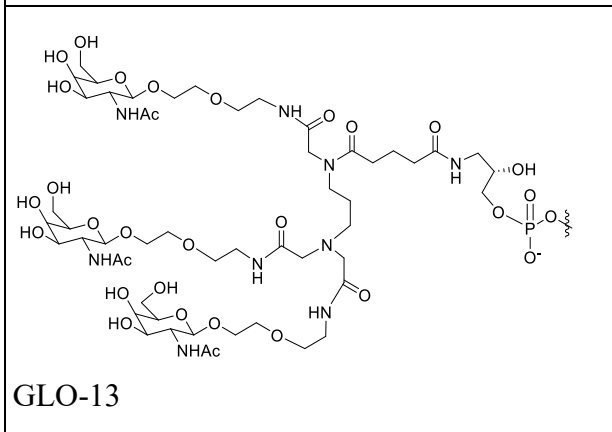
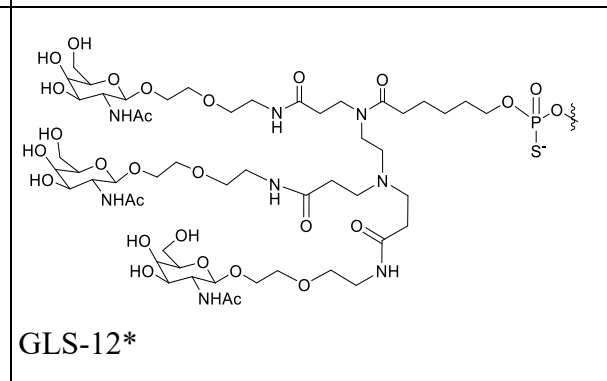
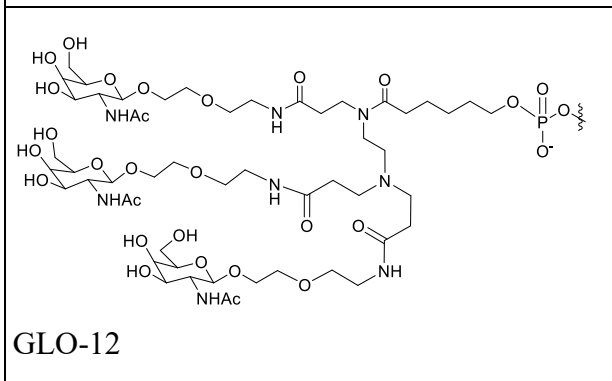
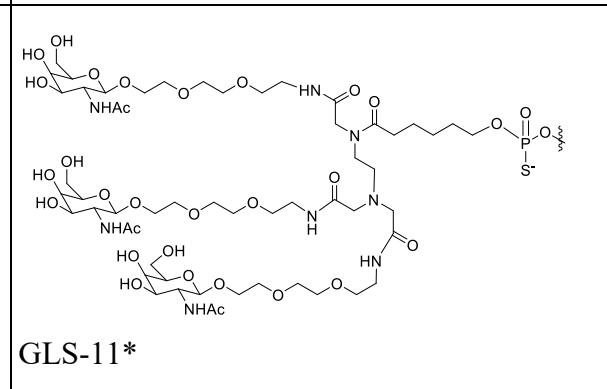
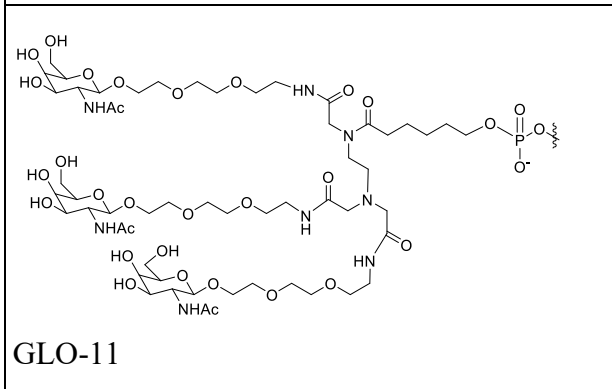
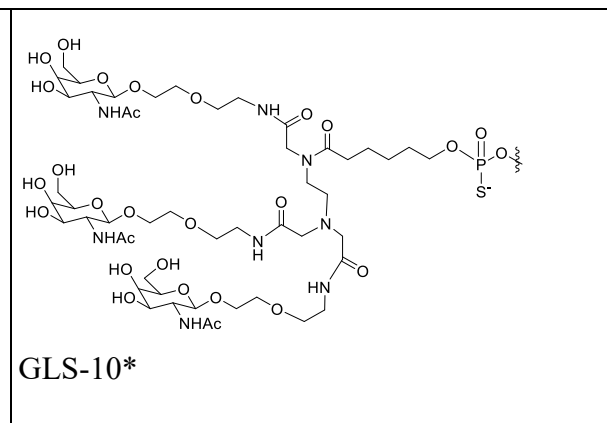
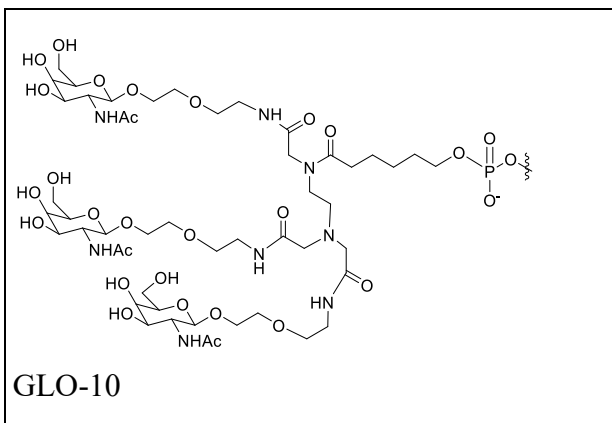
Fórmula 1

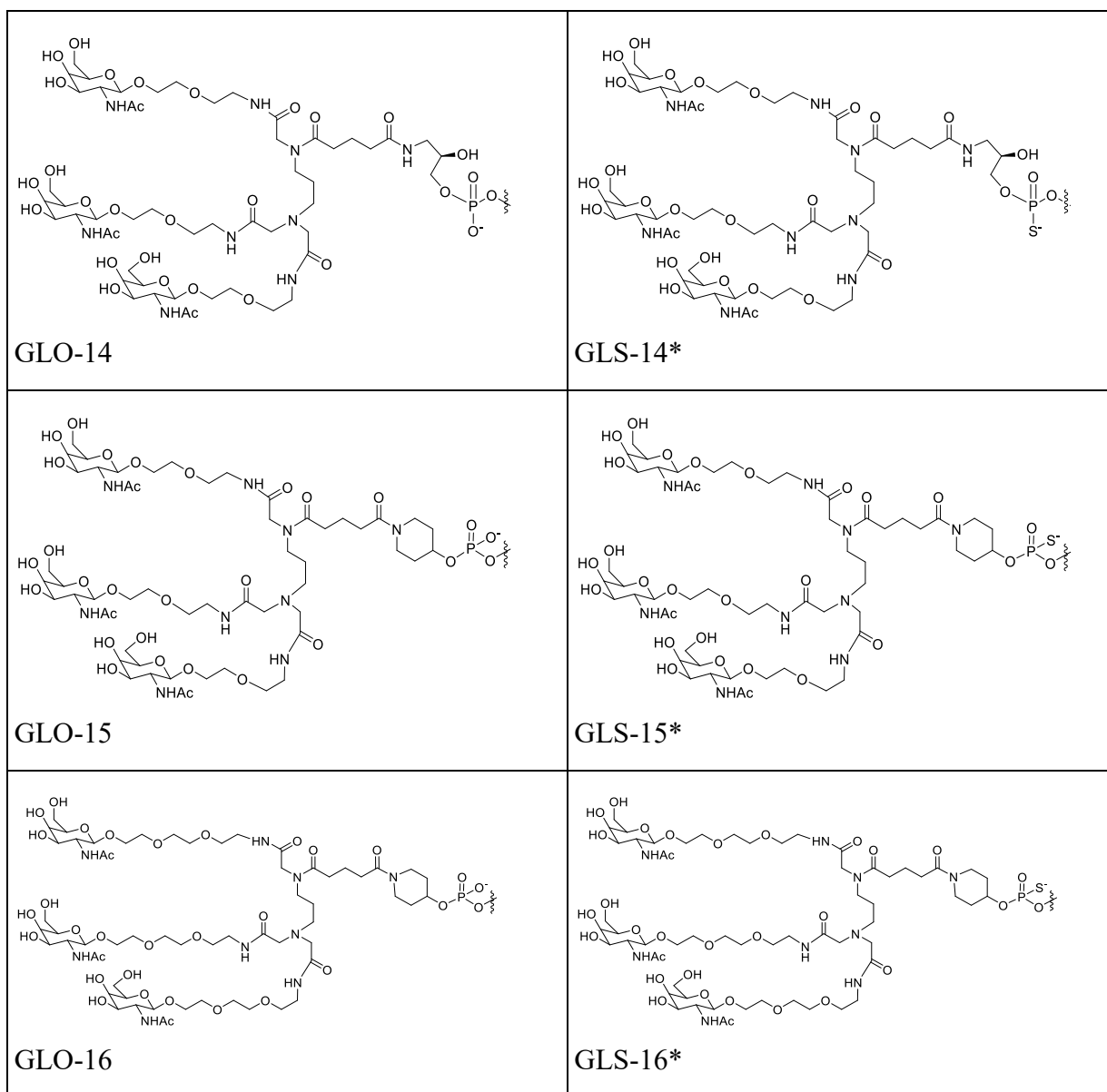
Cada n'' se selecciona independientemente de entre 1 o 2.

En algunas realizaciones, el grupo diana tiene la siguiente estructura:

 GLO-1	 GLS-1*
 GLO-2	 GLS-2*
 GLO-3	 GLS-3*
 GLO-4	 GLS-4*
 GLO-5	 GLS-5*







En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc incluye un grupo diana que está conjugado con el extremo 5'-terminal de la cadena sentido. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye un grupo diana que está conjugado con el extremo 3'-terminal de la cadena sentido.

- 5 En algunas realizaciones, la cadena antisentido incluye un residuo abásico invertido en el extremo 3'-terminal.

En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye uno o dos residuos abásicos invertidos y/o uno o dos residuos de imann en el extremo 3'-terminal y/o 5'-terminal. En determinadas realizaciones, cada extremo de la cadena sentido incluye un residuo abásico invertido respectivamente. En determinadas realizaciones, cada extremo de la cadena sentido incluye un residuo de imann respectivamente. En algunas realizaciones, uno o más residuos abásicos invertidos o uno o más residuos de imann se conjugan con uno o ambos extremos de la cadena

sentido a través de enlaces fosforotioato. En algunas realizaciones, el grupo diana se conjuga, además, con cada extremo de la cadena sentido a través de un enlace fosforotioato. En algunas realizaciones, el grupo diana se conjuga además con el extremo 5'-terminal de la cadena sentido a través de un enlace fosforotioato. En determinadas realizaciones, un residuo abásico invertido o residuo de imann en el extremo 5'-terminal de la cadena sentido, en donde el residuo abásico invertido o residuo de imann está unidos a un nucleótido adyacente a través de un enlace fosforotioato al extremo 5'-terminal de la secuencia de nucleótidos de la cadena sentido. En determinadas realizaciones, un residuo abásico invertido o residuo de imann en el extremo 3'-terminal de la cadena sentido, en donde el residuo abásico invertido o residuo de imann está unido a un nucleótido adyacente a través de un enlace fosforotioato al extremo 3'-terminal de la secuencia de nucleótidos de la cadena sentido. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye, además, un grupo diana unido a un residuo abásico invertido o un residuo de imann en el extremo 5'-terminal de la cadena sentido, en donde el grupo diana está unido a un residuo abásico invertido adyacente o residuo de imann a través de un enlace fosforotioato y, opcionalmente, el grupo diana es N-acetil-galactosamina (GalNAc).

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc tiene dos extremos romos. En algunas realizaciones, al menos una cadena incluye una protuberancia en el extremo 3'-terminal de al menos 1 nucleótido. En algunas realizaciones, al menos una cadena incluye una protuberancia en el extremo 3'-terminal de al menos 2 nucleótidos.

En determinadas realizaciones, el ARNbc comprende una cadena doble seleccionada de entre AV03732, AV03733, AV03734, AV03736, AV03739, AV03741, AV03750, AV03751, AV03752, AV03754, AV03768, AV03770, AV03771, AV03791, AV03792, AV03793, AV03794, AV03795, AV03796, AV03797, AV03798, AV03799, AV03800, AV03804, AV03805, AV03806, AV03807, AV03809, AV03817, AV03826, AV03827, AV03829, AV03831, AV03832, AV03833, AV03834, AV03835, AV03836, AV03837, AV03838, AV03839, AV03840, AV03842 y en donde la cadena doble incluye, opcionalmente, un ligando diana.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un agente de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de la MAPT, en donde el agente de ARNbc incluye una cadena sentido y una cadena antisentido, en donde la cadena sentido es complementaria a la cadena antisentido, en donde la cadena antisentido comprende una región complementaria con parte de un transcrito de ARN de la MAPT, en donde cada cadena tiene una longitud de aproximadamente 15 a aproximadamente 30 nucleótidos, en donde la cadena sentido comprende una secuencia que puede estar representada por la fórmula (I):



en donde:

cada N'_F representa un nucleótido modificado con 2'-fluoro; cada N'_{N1} y N'_{N2} representan independientemente un nucleótido modificado o no modificado; cada N'_L representa independientemente un nucleótido modificado o no modificado, pero no un nucleótido modificado con 2'-fluoro, y m' y n' son cada uno independientemente un número entero de 0 a 7.

En algunas realizaciones, N'_{N1} y N'_{N2} incluyen solo un nucleótido modificado con 2'-fluoro.

En algunas realizaciones, N'_{N1} representa independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, opcionalmente, N'_{N2} representa independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.

En algunas realizaciones, N'_{N2} representa independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, opcionalmente, N'_{N1} representa independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.

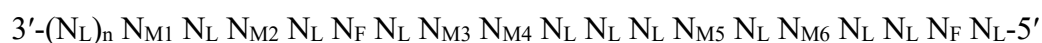
En algunas realizaciones, m' es 2 y n' es 4, o m' es 2 y n' es 2. En algunas realizaciones, m' es 1 y n' es 4, o m' es 1 y n' es 2. En algunas realizaciones, m' es 0 y n' es 4, o m' es 0 y n' es 2.

En algunas realizaciones, cada N'_L representa independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye un grupo diana que está conjugado con el extremo 5'-terminal de la cadena sentido, preferentemente, el grupo diana es uno cualquiera que se selecciona de entre GLO-1 a GLO-16 y GLS-1* a GLS-16* mencionados anteriormente, más preferentemente, el grupo diana es GLS-15* mencionado anteriormente. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc incluye un grupo diana que está conjugado con el extremo 3'-terminal de la cadena sentido. En determinadas realizaciones, la cadena antisentido incluye un residuo abásico invertido en el extremo 3'-terminal. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye uno o dos residuos abásicos invertidos y/o uno o dos residuos de imann en el extremo 3'-terminal y/o 5'-terminal. En determinadas realizaciones, cada extremo 3'-terminal y 5'-terminal de la cadena sentido incluye independientemente un residuo abásico invertido. En determinadas realizaciones, cada extremo 3'-terminal y 5'-terminal de la cadena sentido incluye independientemente un residuo de imann. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye dos residuos abásicos invertidos en los extremos 3'-terminal y 5'-terminal y cualquiera de los residuos en el extremo 3'-terminal o 5'-terminal se conjuga además con un grupo diana, que preferentemente es GLS-15* mencionado anteriormente. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye dos residuos de imann en los extremos 3'-terminal y 5'-terminal y

cualquiera de los residuos en el extremo 3'-terminal o 5'-terminal se conjuga, además, con un grupo diana, que preferentemente es GLS-15* mencionado anteriormente. En determinadas realizaciones, el extremo 5' de la cadena sentido incluye un residuo abásico invertido o residuo de imann en el extremo 5'-terminal de la cadena sentido, en donde el residuo abásico invertido o residuos de imann está unido a un nucleótido adyacente a través de un enlace fosforotioato al extremo 5'-terminal de la secuencia de nucleótidos de la cadena sentido. En determinadas realizaciones, el extremo 3' de la cadena sentido incluye un residuo abásico invertido o residuo de imann en el extremo 3'-terminal de la cadena sentido, en donde el residuo abásico invertido o residuos de imann está unido a un nucleótido adyacente a través de un enlace fosforotioato al extremo 3'-terminal de la secuencia de nucleótidos de la cadena sentido. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye, además, un grupo diana unido a un residuo abásico invertido o un residuo de imann en el extremo 5'-terminal de la cadena sentido, en donde el grupo diana está unido a un residuo abásico invertido adyacente o residuo de imann a través de un enlace fosforotioato y, opcionalmente, el grupo diana es N-acetil-galactosamina (GalNAc). En determinadas realizaciones, el extremo 5'-terminal de la cadena sentido incluye un residuo abásico invertido, en donde el residuo abásico invertido está unido a un nucleótido adyacente a través de un enlace fosforotioato al extremo 5'-terminal de la secuencia de nucleótidos de la cadena sentido. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye además un grupo diana unido a un residuo abásico invertido en el extremo 5'-terminal de la cadena sentido, en donde el grupo diana está unido a un residuo abásico invertido adyacente a través de un enlace fosforotioato y, opcionalmente, el grupo diana es N-acetil-galactosamina (GalNAc), y la cadena tiene independientemente 21 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, la cadena antisentido del agente de ARNbc es al menos casi complementaria a cualquier región diana de la SEC ID N.º: 1 y se proporciona en cualquiera de las Tablas 1 a 3.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un agente de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de la MAPT, en donde el agente de ARNbc incluye una cadena sentido y una cadena antisentido, en donde la cadena sentido es complementaria a la cadena antisentido, en donde la cadena antisentido comprende una región complementaria con un transcrito de ARN de la MAPT, en donde cada cadena tiene una longitud de aproximadamente 18 a aproximadamente 30 nucleótidos, en donde la cadena antisentido comprende una secuencia que puede estar representada por la fórmula (II):



(II)

en donde:

cada N_F representa un nucleótido modificado con 2'-fluoro; cada N_{M1} , N_{M2} , N_{M3} , N_{M4} , N_{M5} y N_{M6} representan independientemente un nucleótido modificado o no modificado; cada N_L representa independientemente un nucleótido modificado o no modificado, pero no un nucleótido modificado con 2'-fluoro, y n es un número entero de 0 a 7.

- 5 En algunas realizaciones, N_{M1} , N_{M2} , N_{M3} , N_{M4} , N_{M5} y N_{M6} tienen solo tres nucleótidos modificados con 2'-fluoro. En algunas realizaciones, N_{M1} , N_{M2} , N_{M3} , N_{M4} , N_{M5} y N_{M6} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, un nucleótido con 2'-O-metilo, un nucleótido modificado con UNA o un nucleótido que comprende un mimético de fosfato. En algunas realizaciones, el nucleótido modificado es un nucleótido modificado definido anteriormente. En algunas realizaciones, cada N_L representa independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.

En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M3} y N_{M5} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, opcionalmente, N_{M1} , N_{M4} y N_{M6} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.

- 15 En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M4} y N_{M5} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, opcionalmente, N_{M1} , N_{M3} y N_{M6} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.

- En algunas realizaciones, N_{M1} , N_{M3} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, opcionalmente, N_{M2} , N_{M4} y N_{M5} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.
- 20

En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M3} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, opcionalmente, N_{M1} , N_{M4} y N_{M5} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.

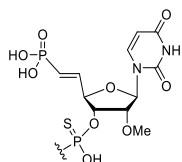
- En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M4} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, opcionalmente, N_{M1} , N_{M3} y N_{M5} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.
- 25

- En algunas realizaciones, N_{M1} , N_{M3} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro y N_{M5} representa un nucleótido modificado con UNA, opcionalmente, N_{M2} y N_{M4} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.
- 30

En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M3} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro y N_{M5} representa un nucleótido modificado con UNA, opcionalmente, N_{M1} y N_{M4} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.

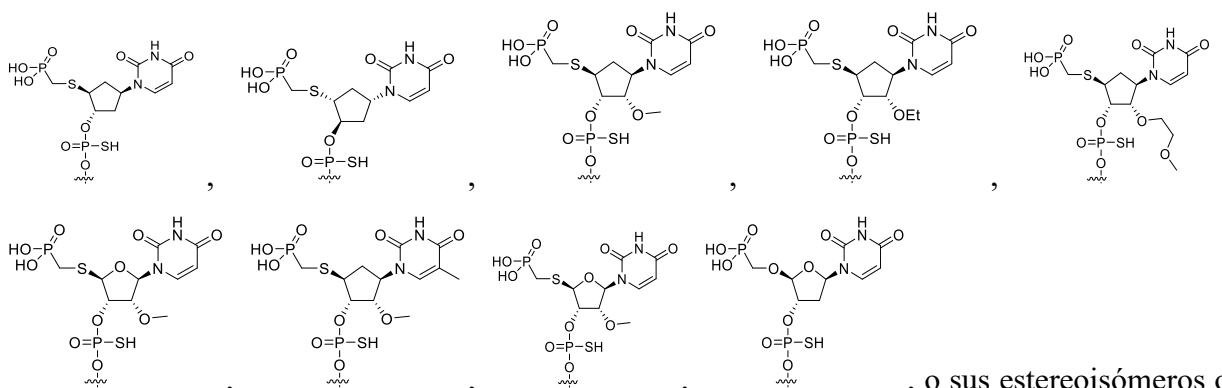
En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M4} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro y N_{M5} representa un nucleótido modificado con UNA, opcionalmente, N_{M1} y N_{M63} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo.

- 5 En algunas realizaciones, el primer nucleótido N_L (contando desde el extremo 5') es VPu*, que



tiene la estructura

En algunas realizaciones, el primer nucleótido N_L (contando desde el extremo 5') se selecciona del grupo que consiste en



- 10 , o sus estereoisómeros o racematos.

En algunas realizaciones, n es 1, o n es 2, o n es 3, o n es 5.

En algunas realizaciones, la cadena antisentido del agente de ARNbc es al menos casi complementaria a cualquier región diana de la SEC ID N.º: 1 y se proporciona en cualquiera de las Tablas 1 a 3.

- 15 Según otro aspecto de la invención, se proporciona un agente de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) para inhibir la expresión de la MAPT, en donde el agente de ARNbc incluye una cadena sentido y una cadena antisentido, en donde la cadena sentido y la cadena antisentido forman una cadena doble de ARNbc, en donde dicha cadena sentido es complementaria a la
- 20 cadena antisentido, en donde dicha cadena antisentido comprende una región de complementariedad con un transcrito de ARNm de la MAPT, en donde la región de complementariedad comprende al menos 15 nucleótidos contiguos, en donde la cadena doble de ARNbc está representada por la fórmula (III):

sentido: 5'-(N'_L) $_n$ N'_L N'_L N'_L N'_L N'_F N'_L N'_F N'_L N'_{N1} N'_{N2} N'_L N'_L N'_L N'_L (N'_L) $_m$ -3'

- 25 antisentido: 3'-(N_L) $_n$ N_{M1} N_L N_{M2} N_L N_F N_L N_{M3} N_{M4} N_L N_L N_L N_{M5} N_L N_{M6} N_L N_L N_F N_L -5'

(III)

en donde:

cada cadena tiene entre aproximadamente 18 y aproximadamente 30 nucleótidos de longitud;

cada N_F y N'_F representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro; N_{M1} , N_{M2} ,

- 5 N_{M3} , N_{M4} , N_{M5} , N_{M6} , N'_{N1} y N'_{N2} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado o no modificado; cada N_L y N'_L representan independientemente un nucleótido modificado o no modificado, pero no un nucleótido modificado con 2'-fluoro, y m' , n' y n son cada uno independientemente un número entero de 0 a 7.

En algunas realizaciones, N_{M1} , N_{M2} , N_{M3} , N_{M4} , N_{M5} y N_{M6} tienen solo tres nucleótidos

- 10 modificados con 2'-fluoro, N'_{N1} y N'_{N2} incluyen solo un nucleótido modificado con 2'-fluoro. En algunas realizaciones, cada N'_L y N_L representan independientemente un nucleótido con 2'-O-metilo. En algunas realizaciones, N_{M1} , N_{M2} , N_{M3} , N_{M4} , N_{M5} y N_{M6} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, un nucleótido con 2'-O-metilo, un nucleótido modificado con UNA o un nucleótido que comprende un mimético de fosfato. En
- 15 algunas realizaciones, N'_{N1} y N'_{N2} representan independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro, un nucleótido 2'-O-metilo. En algunas realizaciones, el nucleótido modificado es un nucleótido modificado definido anteriormente.

En algunas realizaciones, m' es 2 y n' es 4, m' es 2 y n' es 6, o m' es 2 y n' es 2. En algunas realizaciones, m' es 1 y n' es 4, o m' es 1 y n' es 2. En algunas realizaciones, m' es 0 y n' es 4, o

- 20 m' es 0 y n' es 2. En algunas realizaciones, n es 1, o n es 2, o n es 3, o n es 5.

En algunas realizaciones, N'_{N1} representa independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro.

En algunas realizaciones, N'_{N2} representa independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro.

- 25 En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M3} y N_{M5} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro.

En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M4} y N_{M5} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro.

En algunas realizaciones, N_{M1} , N_{M3} y N_{M6} representan cada uno independientemente un

- 30 nucleótido modificado con 2'-fluoro.

En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M3} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro.

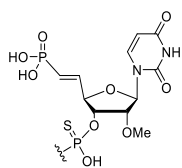
En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M4} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro.

En algunas realizaciones, N_{M1} , N_{M3} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro y N_{M5} representa un nucleótido modificado con UNA.

- 5 En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M3} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro y N_{M5} representa un nucleótido modificado con UNA.

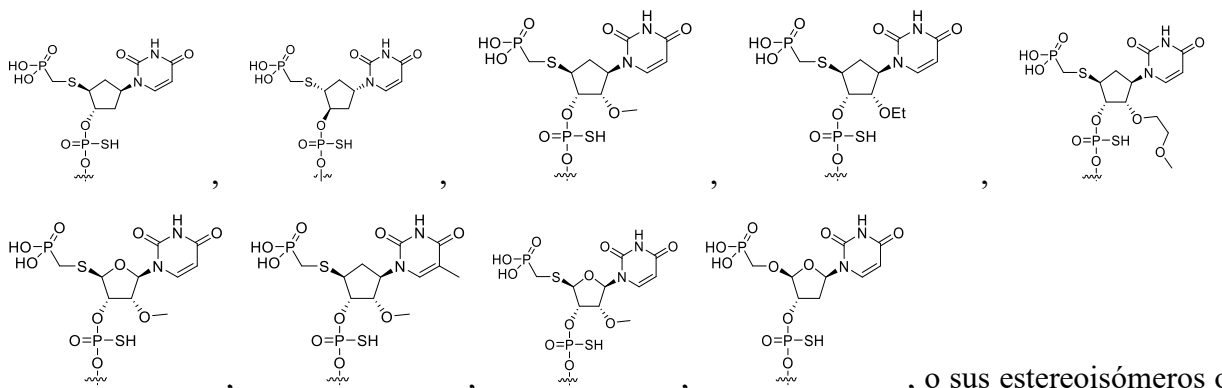
En algunas realizaciones, N_{M2} , N_{M4} y N_{M6} representan cada uno independientemente un nucleótido modificado con 2'-fluoro y N_{M5} representa un nucleótido modificado con UNA.

En algunas realizaciones, el primer nucleótido N_L (contando desde el extremo 5') es VPu*, que



- 10 tiene la estructura .

En algunas realizaciones, el primer nucleótido N_L (contando desde el extremo 5') se selecciona del grupo que consiste en



- 15 racematos.

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc incluye un grupo diana que está conjugado con el extremo 5'-terminal de la cadena sentido, preferentemente, el grupo diana es uno cualquiera que se selecciona de entre GLO-1 a GLO-16 y GLS-1* a GLS-16* mencionados anteriormente, más preferentemente, el grupo diana es GLS-15* mencionado anteriormente. En determinadas

- 20 realizaciones, el agente de ARNbc incluye un grupo diana que está conjugado con el extremo 5'-terminal de la cadena sentido. En determinadas realizaciones, la cadena antisentido incluye un residuo abásico invertido en el extremo 3'-terminal. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye uno o dos residuos abásicos invertidos y/o uno o dos residuos de imann en el extremo 3'-terminal y/o 5'-terminal. En determinadas realizaciones, cada extremo 3'-terminal y
- 25 5'-terminal de la cadena sentido incluye independientemente un residuo abásico invertido. En

determinadas realizaciones, cada extremo 3'-terminal y 5'-terminal de la cadena sentido incluye independientemente un residuo de imann. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye dos residuos abásicos invertidos en los extremos 3'-terminal y 5'-terminal y cualquiera de los residuos en el extremo 3'-terminal o 5'-terminal se conjuga además con un grupo diana, que preferentemente es GLS-15* mencionado anteriormente. En determinadas realizaciones, la cadena sentido incluye dos residuos de imann en los extremos 3'-terminal y 5'-terminal y cualquiera de los residuos en el extremo 3'-terminal o 5'-terminal se conjuga, además, con un grupo diana, que preferentemente es GLS-15* mencionado anteriormente. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc tiene dos extremos romos. En determinadas realizaciones, al menos una cadena incluye una protuberancia en el extremo 3'-terminal de al menos 1 nucleótido. En determinadas realizaciones, al menos una cadena incluye una protuberancia en el extremo 3'-terminal de al menos 2 nucleótidos.

En determinadas realizaciones, la cadena antisentido del agente de ARNbc es al menos casi complementaria a cualquier región diana de la SEC ID N.º: 1 y se proporciona en cualquiera de las Tablas 1 a 3.

Según un aspecto de la invención, se proporciona una composición que incluye cualquier realización del aspecto del agente de ARNbc de la invención mencionado anteriormente. En determinadas realizaciones, la composición también incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición también incluye uno o más agentes terapéuticos adicionales. En determinadas realizaciones, la composición se envasa en un kit, recipiente, paquete, dosificador, jeringa precargada o vial. En algunas realizaciones, la composición está formulada para la administración subcutánea, está formulada para la administración intratecal o está formulada para la administración intravenosa (IV).

Según otro aspecto de la invención se proporciona una célula que incluye cualquier realización del aspecto del agente de ARNbc de la invención mencionado anteriormente. En algunas realizaciones, la célula es una célula de mamífero, opcionalmente, una célula humana.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para inhibir la expresión de un gen MAPT en una célula, y el método incluye: (i) preparar una célula que incluya una cantidad eficaz de cualquier realización del aspecto del agente de ARNbc de la invención mencionado anteriormente o cualquier realización de una composición de la invención mencionada anteriormente. En determinadas realizaciones, el método también incluye: (ii) mantener la célula preparada durante un tiempo suficiente para obtener la degradación del transcrito de ARNm de un gen MAPT, inhibiendo así la expresión del gen MAPT en la célula. En algunas realizaciones, la célula está en un sujeto y el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía subcutánea. En

algunas realizaciones, la célula está en un sujeto y el agente de ARNbc se administra al sujeto mediante administración IV. En algunas realizaciones, la célula está en un sujeto y el agente de ARNbc se administra al sujeto mediante administración intratecal. En determinadas realizaciones, el método también incluye evaluar la inhibición del gen MAPT, después de la administración del agente de ARNbc al sujeto, en donde un medio para la evaluación comprende: (i) determinar una o más características fisiológicas de una enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto y (ii) comparar las características fisiológicas determinadas con una característica fisiológica de referencia previa al tratamiento de la enfermedad o afección asociada a la MAPT y/o con una característica fisiológica de control de la enfermedad o afección asociada a la MAPT, en donde la comparación indica una o más de una presencia o ausencia de inhibición de la expresión del gen MAPT en el sujeto. En algunas realizaciones, la característica fisiológica es una o más de las siguientes: el nivel de ARNm de la MAPT y el nivel de proteína MAPT en una o más muestras de sangre, suero o líquido cefalorraquídeo. Una reducción en la expresión de la MAPT también puede evaluarse indirectamente midiendo una disminución en la actividad biológica de la MAPT, por ejemplo, o patologías adicionales asociadas con niveles elevados de la MAPT, preferentemente en muestras de sangre, suero o líquido cefalorraquídeo, una disminución en uno o más de los siguientes: nivel de ARNm de la MAPT, nivel de proteína MAPT.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para inhibir la expresión de un gen MAPT en un sujeto, y el método que incluye la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de una realización de un aspecto del agente de ARNbc de la invención mencionado anteriormente o una realización de una composición de la invención mencionada anteriormente. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía subcutánea. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto mediante administración IV. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto mediante administración intratecal. En algunas realizaciones, el método también incluye evaluar la inhibición del gen MAPT, después de la administración del agente de ARNbc, en donde un medio para la evaluación comprende: (i) determinar una o más características fisiológicas de una enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto y (ii) comparar las características fisiológicas determinadas con una característica fisiológica de referencia previa al tratamiento de la enfermedad o afección asociada a la MAPT y/o con una característica fisiológica de control de la enfermedad o afección asociada a la MAPT, en donde la comparación indica una o más de una presencia o ausencia de inhibición de la expresión del gen MAPT en el sujeto. En algunas realizaciones, la expresión del gen MAPT se puede evaluar en función del nivel o cambio en el nivel de cualquier variable asociada con la expresión del gen MAPT, como el nivel de ARNm

de la MAPT o el nivel de proteína MAPT (tau). Una reducción en la expresión de la MAPT también puede evaluarse indirectamente midiendo una disminución en la actividad biológica de la MAPT, por ejemplo, o patologías adicionales asociadas con niveles elevados de la MAPT, preferentemente en muestras de sangre, suero o líquido cefalorraquídeo. Fenotípicamente, las tauopatías muestran una progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual. Las tauopatías son una clase heterogénea de trastornos neurodegenerativos progresivos caracterizados patológicamente por la presencia de agregados de Tau en el cerebro. Fenotípicamente, las tauopatías muestran una progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual. Las tauopatías son una clase heterogénea de trastornos neurodegenerativos progresivos caracterizados patológicamente por la presencia de agregados de tau en el cerebro.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para tratar una enfermedad o afección asociada con la presencia de la proteína MAPT (tau), y el método incluye administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una realización de cualquier aspecto de un agente de ARNbc de la invención mencionado anteriormente o una realización de cualquier composición de la invención mencionada anteriormente para inhibir la expresión del gen MAPT. En una realización, el trastorno es un trastorno asociado a la MAPT. En una realización, el trastorno está asociado con una anomalía de la proteína tau codificada por el gen MAPT. En una realización, la anomalía de la proteína tau codificada por el gen MAPT da como resultado la agregación de tau en el cerebro del sujeto. En ciertas realizaciones, el trastorno asociado a la MAPT es una enfermedad neurodegenerativa. En una realización, el trastorno neurodegenerativo es un trastorno familiar. En una realización, el trastorno neurodegenerativo es un trastorno esporádico. En algunas realizaciones, la enfermedad, trastorno o afección asociada con la MAPT se selecciona del grupo que consiste en: tauopatía, enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (DFT), demencia frontotemporal variante conductual (DFTvc), DLFT con mutaciones de la MAPT, DFT con enfermedad de la neurona motora, afasia progresiva primaria variante no fluente (nfvPPA), afasia progresiva primaria semántica (APP-S), afasia progresiva primaria logopénica (APP-L), demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (DPFT-17), enfermedad de Pick (EPI), enfermedad de los granos argirófilos (EGA), degeneración corticobasal (DCB), tauopatía multisistémica con demencia presenil (TDMS), tauopatía de la sustancia blanca con inclusiones gliales globulares (DLFT con IGG), demencia por ovillos neurofibrilares (ONF), esclerosis lateral amiotrófica (ELA), síndrome corticobasal (SCB), parálisis supranuclear progresiva (PSP), enfermedad de Parkinson, parkinsonismo posencefalítico, síndrome de Down (SD), enfermedad de Huntington, distrofia miotónica tipo 1 y enfermedad de Niemann-Pick.

En algunas realizaciones, el método también incluye administrar un régimen terapéutico

adicional al sujeto. En algunas realizaciones, el régimen terapéutico adicional incluye un tratamiento para la enfermedad o afección asociada a la MAPT. En determinadas realizaciones, el régimen terapéutico adicional comprende administrar al sujeto uno o más agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT de la invención, administrar al sujeto un agente terapéutico que no está basado en ARNbc de la MAPT y una modificación de la conducta en el sujeto. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en un oligonucleótido, una molécula pequeña, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal y un péptido. Algunos ejemplos de otros agentes terapéuticos incluyen, por ejemplo, un inhibidor de monoamina, por ejemplo, tetrabenazina (Xenazine), deutetrabenazina (Austedo) y reserpina, un anticonvulsivante, por ejemplo, ácido valproico (Depakote, Depakene, Depacon) y clonazepam (Klonopin), un agente antipsicótico, por ejemplo, risperidona (Risperdal) y haloperidol (Haldol), y un antidepresivo, por ejemplo, paroxetina (Paxil).

En algunas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía subcutánea. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto mediante administración IV. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía intratecal. En otra realización más, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía intracisternal. Un ejemplo no limitante de administración intracisternal comprende una inyección en la cisterna magna (cisterna cerebelomedular) mediante una punción suboccipital. En algunas realizaciones, el método también incluye determinar la eficacia del agente de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) administrado en el sujeto.

En algunas realizaciones, un medio para determinar la eficacia del tratamiento en el sujeto comprende: (i) determinar una o más características fisiológicas de la enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto y (ii) comparar las características fisiológicas determinadas con una característica fisiológica de referencia previa al tratamiento de la enfermedad o afección asociada a la MAPT, en donde la comparación indica una o más de las siguientes: presencia, ausencia y nivel de eficacia de la administración del agente de ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) al sujeto.

En algunas realizaciones, la expresión del gen MAPT se puede evaluar en función del nivel o el cambio en el nivel de cualquier variable asociada con la expresión del gen MAPT, como el nivel de ARNm de la MAPT, el nivel de proteína MAPT(tau) en el sujeto, o los síntomas y las características incluyen pérdida de memoria, pérdida de función motora y/o aumento en el número y/o volumen de inclusiones neurofibrilares.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para disminuir un nivel de proteína MAPT en un sujeto en comparación con un nivel de referencia de proteína MAPT previo al

- tratamiento en el sujeto, y el método incluye administrar al sujeto una cantidad eficaz de una realización de cualquier agente de ARNbc mencionado anteriormente de la invención o una realización de cualquier composición de la invención mencionada anteriormente para disminuir el nivel de expresión del gen MAPT. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía subcutánea o se administra al sujeto mediante administración IV. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía intratecal. En otra realización más, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía intracisternal. Un ejemplo no limitante de administración intracisternal comprende una inyección en la cisterna magna (cisterna cerebelomedular) mediante una punción suboccipital.
- Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para modular una característica fisiológica de una enfermedad o afección asociada a la MAPT en un sujeto en comparación con una característica fisiológica de referencia previa al tratamiento de la enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto, y el método incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de una realización de cualquier agente de ARNbc de la invención mencionado anteriormente o una realización de cualquier composición de la invención mencionada anteriormente para modular la característica fisiológica de la enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía subcutánea o se administra al sujeto mediante administración IV. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía intratecal. En otra realización más, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía intracisternal. Un ejemplo no limitante de administración intracisternal comprende una inyección en la cisterna magna (cisterna cerebelomedular) mediante una punción suboccipital. En determinadas realizaciones, las características fisiológicas y los síntomas son uno o más de los siguientes: el nivel de ARNm de la MAPT, el nivel de proteína MAPT en el sujeto o progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual, o síntomas y características distintivas que incluyen pérdida de memoria, pérdida de función motora y/o aumento en el número y/o volumen de inclusiones neurofibrilares. En determinadas realizaciones, la administración del ARNbc provoca una disminución del ARNm del gen MAPT en uno o más de los siguientes: hipocampo, cuerpo estriado, corteza cerebral, cerebelo, tálamo, hipotálamo y médula espinal.
- Según otro aspecto de la invención, se proporciona el agente de ARNbc mencionado anteriormente para su uso en un método para el tratamiento de una enfermedad o afección asociada con la presencia de la proteína MAPT. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección es una o más de las siguientes: tauopatía, enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (DFT), demencia frontotemporal variante conductual (DFTvc), DLFT con mutaciones MAPT, DFT con enfermedad de la neurona motora, afasia progresiva primaria

variante no fluente (nfvPPA), afasia progresiva primaria semántica (APP-S), afasia progresiva primaria logopénica (APP-L), demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (DPFT-17), enfermedad de Pick (EPI), enfermedad de los granos argirófilos (EGA), degeneración corticobasal (DCB), tauopatía multisistémica con demencia presenil (TDMS),
5 tauopatía de la sustancia blanca con inclusiones gliales globulares (DLFT con IGG), demencia por ovillos neurofibrilares (ONF), esclerosis lateral amiotrófica (ELA), síndrome corticobasal (SCB), parálisis supranuclear progresiva (PSP), enfermedad de Parkinson, parkinsonismo posencefalítico, síndrome de Down (SD), enfermedad de Huntington, distrofia miotónica tipo 1 y enfermedad de Niemann-Pick.

- 10 Según otro aspecto de la invención, se proporciona un agente polinucleotídico antisentido para inhibir la expresión de la proteína MAPT, y el agente incluye de 10 a 30 nucleótidos contiguos, en donde al menos uno de los nucleótidos contiguos es un nucleótido modificado y en donde la secuencia de nucleótidos del agente tiene aproximadamente un 80 % de complementariedad en toda su longitud con la región equivalente de la secuencia de nucleótidos de SEC ID N.º: 1. En
15 algunas realizaciones, la región equivalente es cualquiera de las regiones diana de la SEC ID N.º: 1 y la secuencia complementaria es una proporcionada en una de las Tablas 1 a 3. En determinadas realizaciones, el agente polinucleotídico antisentido incluye una de las secuencias antisentido proporcionadas en una de las Tablas 1 a 3.

- Según otro aspecto de la invención, se proporciona una composición que incluye una realización
20 de cualquiera de los agentes polinucleotídicos antisentido mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, la composición también incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición también incluye uno o más agentes terapéuticos adicionales para el tratamiento de una enfermedad o afección asociada a la MAPT. En determinadas realizaciones, la composición se envasa en un kit, recipiente, paquete, dosificador,
25 jeringa precargada o vial. En algunas realizaciones, la composición está formulada para la administración por vía subcutánea, intratecal o IV.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona una célula que incluye una realización de cualquiera de los agentes polinucleotídicos antisentido mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, la célula es una célula de mamífero, opcionalmente, una célula humana.

- 30 Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para inhibir la expresión de un gen MAPT en una célula, y el método incluye: (i) preparar una célula que incluya una cantidad eficaz de una realización de cualquiera de los agentes polinucleotídicos antisentido mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, el método también incluye (ii) mantener la célula preparada en (i) durante un tiempo suficiente para obtener la degradación del transcrito de

ARNm de un gen MAPT, inhibiendo así la expresión del gen MAPT en la célula.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para inhibir la expresión de un gen MAPT en un sujeto, y el método incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de una realización de cualquiera de los agentes polinucleotídicos antisentido mencionados anteriormente.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para tratar una enfermedad o afección asociada a la presencia de la proteína MAPT, y el método incluye la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de una realización de cualquiera de los agentes polinucleotídicos antisentido mencionados anteriormente o una realización de cualquier composición de la invención mencionada anteriormente para inhibir la expresión del gen MAPT. En determinadas realizaciones, la enfermedad o afección es una o más de las siguientes: tauopatía, enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (DFT), demencia frontotemporal variante conductual (DFTvc), DLFT con mutaciones MAPT, DFT con enfermedad de la neurona motora, afasia progresiva primaria variante no fluente (nfvPPA), afasia progresiva primaria semántica (APP-S), afasia progresiva primaria logopénica (APP-L), demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (DPFT-17), enfermedad de Pick (EPI), enfermedad del grano argirófilo (EGA), degeneración corticobasal (DCB), tauopatía multisistémica con demencia presenil (TDMS), tauopatía de la sustancia blanca con inclusiones gliales globulares (DLFT con IGG), demencia por ovillos neurofibrilares (ONF), esclerosis lateral amiotrófica (ELA), síndrome corticobasal (SCB), parálisis supranuclear progresiva (PSP), enfermedad de Parkinson, parkinsonismo posencefalítico, síndrome de Down (SD), enfermedad de Huntington, distrofia miotónica tipo 1 y enfermedad de Niemann-Pick.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para disminuir un nivel de proteína MAPT en un sujeto en comparación con un nivel de referencia de proteína MAPT previo al tratamiento en el sujeto, y el método incluye administrar al sujeto una cantidad eficaz de una realización de cualquiera de los agentes polinucleotídicos antisentido mencionados anteriormente o una realización de cualquier composición de la invención mencionada anteriormente para disminuir el nivel de expresión del gen MAPT. En determinadas realizaciones, el agente polinucleotídico antisentido se administra al sujeto por vía subcutánea o IV. En algunas realizaciones, el agente polinucleotídico antisentido se administra al sujeto por vía intratecal. En otra realización más, el agente polinucleotídico antisentido se administra al sujeto por vía intracisternal. Un ejemplo no limitante de administración intracisternal comprende una inyección en la cisterna magna (cisterna cerebelomedular) mediante una punción suboccipital.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un agente polinucleotídico antisentido para

inhibir la expresión del gen MAPT, el agente incluye de 10 a 30 nucleótidos contiguos, en donde al menos uno de los nucleótidos contiguos es un nucleótido modificado y en donde la secuencia de nucleótidos del agente tiene aproximadamente un 80 % o aproximadamente un 85 % de complementariedad en toda su longitud a la región equivalente de la secuencia de nucleótidos de SEC ID N.º: 1.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para modular una característica fisiológica de una enfermedad o afección asociada a la MAPT en un sujeto en comparación con una característica fisiológica de referencia previa al tratamiento de la enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto, y el método incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de una realización de cualquiera de los agentes polinucleotídicos antisentido o una realización de cualquier composición de la invención mencionada anteriormente para modular la característica fisiológica de la enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto. En algunas realizaciones, el agente polinucleotídico antisentido se administra al sujeto por vía subcutánea o IV. En algunas realizaciones, el agente polinucleotídico antisentido se administra al sujeto por vía intratecal. En otra realización más, el agente polinucleotídico antisentido se administra al sujeto por vía intracisternal. Un ejemplo no limitante de administración intracisternal comprende una inyección en la cisterna magna (cisterna cerebelomedular) mediante una punción suboccipital. En determinadas realizaciones, las características fisiológicas y los síntomas son uno o más de los siguientes: el nivel de ARNm de la MAPT, el nivel de proteína MAPT en el sujeto o progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual, o síntomas y características distintivas que incluyen pérdida de memoria, pérdida de función motora y/o aumento en el número y/o volumen de inclusiones neurofibrilares.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS

La SEC ID N.º: 1 y SEC ID N.º: 2 (complemento inverso) son ARNm de la MAPT de *Homo sapiens* [secuencia de referencia del NCBI: NM_001377265.1].

La SEC ID N.º: 3 y SEC ID N.º: 4 (complemento inverso) son ARNm de la MAPT de *Homo sapiens* [secuencia de referencia del NCBI: NM_016841.5].

La SEC ID N.º: 5 y SEC ID N.º: 6 (complemento inverso) son ARNm de la MAPT de *Mus musculus* [secuencia de referencia del NCBI: NM_001038609.3].

La SEC ID N.º: 7 y SEC ID N.º: 8 (complemento inverso) son ARNm de la MAPT de *Macaca mulatta* (mono Rhesus) [secuencia de referencia del NCBI: XM_015119954.2].

Las SEC ID N.º: 9 a 500, 1839 a 1842, 2137 a 2281, 2427 a 2571 se muestran en la Tabla 1 y

son secuencias de cadena sentido.

Las SEC ID N.º: 501 a 992, 1843 a 1846, 2427 a 2426, 2572 a 2716 se muestran en la Tabla 1 y son secuencias de cadena antisentido.

Las SEC ID N.º: 993 a 1484 se muestran en la Tabla 2 con modificaciones químicas.

- 5 Las SEC ID N.º: 1485 a 1596, 1597 a 1838, 1847 a 2136 se muestran en la Tabla 3. Una molécula de suministro se indica como “GLX-__” en el extremo 3'-terminal o 5'-terminal de cada cadena sentido.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 10 La invención, en parte, incluye agentes de ARNi, por ejemplo, entre otros, agentes de ARNi bicatenario (bc), que son capaces de inhibir la expresión del gen MAPT. La invención, en parte, también incluye composiciones que comprenden agentes de ARNi de la MAPT y métodos de uso de las composiciones. Los agentes de ARNi de la MAPT descritos en el presente documento se pueden unir a compuestos de suministro para su administración a células, incluidos los
- 15 hepatocitos. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden incluir al menos un agente de ARNbc de la MAPT y un compuesto de suministro. En algunas realizaciones de las composiciones y los métodos de la invención, el compuesto de suministro es un compuesto de suministro que contiene GalNAc. Los agentes de ARNi de la MAPT suministrados a las células son capaces de inhibir la expresión del gen MAPT, reduciendo así la actividad del producto
- 20 proteico MAPT del gen en la célula. Los agentes de ARNbc de la invención se pueden utilizar para tratar enfermedades y afecciones asociadas a la MAPT.

- En algunas realizaciones de la invención, reducir la expresión de la MAPT en una célula o sujeto trata una enfermedad o afección asociada con la expresión de la MAPT en la célula o el sujeto, respectivamente. Los ejemplos no limitantes de enfermedades y afecciones que pueden tratarse
- 25 mediante la reducción de la actividad de la MAPT son: el alivio o la mejora de uno o más síntomas asociados con la expresión no deseada o excesiva de la MAPT, o la progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual complejo. El término "tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada en ausencia de tratamiento.

- 30 Tal como se utiliza en el presente documento, “G”, “C”, “A” y “U” generalmente representan un nucleótido que contiene guanina, citosina, adenina y uracilo, respectivamente, como base. Sin embargo, se entenderá que el término “ribonucleótido” o “nucleótido” también puede referirse a un nucleótido modificado, como se detalla más adelante, o a una fracción de reemplazo sustituta.

El experto en la materia entiende que la guanina, la citosina, la adenina y el uracilo pueden reemplazarse por otras fracciones casi sin alterar las propiedades de emparejamiento de bases de un oligonucleótido que comprende un nucleótido que porta dicha fracción de reemplazo. Por ejemplo, entre otros, un nucleótido que comprende inosina como su base puede emparejarse con nucleótidos que contienen adenina, citosina o uracilo. Por lo tanto, los nucleótidos que contienen uracilo, guanina o adenina pueden reemplazarse en las secuencias de nucleótidos de la invención por un nucleótido que contenga, por ejemplo, inosina. Las secuencias que comprenden dichas fracciones de reemplazo son realizaciones de la invención.

Tal como se utiliza en el presente documento, el gen "MAPT", también conocido como "DDPAC," "FTDP-17," "MAPTL," "MSTD," "MTBT1," "MTBT2," "PPND," "PPP1R1O3," "TAU," "tau-PHF6," "tau-40," y "proteína tau asociada a microtúbulos", se refiere al gen que codifica una proteína llamada proteína tau asociada a microtúbulos (MAPT) de cualquier fuente vertebrada o de mamíferos, incluidos, entre otros, humanos, bovinos, pollos, roedores, ratones, ratas, porcinos, ovinos, primates, monos y cobayas, a menos que se especifique lo contrario. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "proteína MAPT" y "proteína tau" pueden usarse indistintamente. El término también se refiere a fragmentos y variantes de la MAPT natural que tienen al menos una actividad *in vivo* o *in vitro* de una MAPT natural. El aminoácido y las secuencias de codificación completas de la secuencia de referencia del gen MAPT humano se pueden encontrar, por ejemplo, en la secuencia de referencia del GenBank, n.º de registro NM_001377265.1 (isoforma 9 de la MAPT de *Homo sapiens*, SEC ID N.º: 1, complemento inverso, SEC ID N.º: 2); secuencia de referencia del GenBank, n.º de registro NM_016841.5 (isoforma 4 de la MAPT de *Homo sapiens*, SEC ID N.º: 3, complemento inverso, SEQ ID NO: 4); secuencia de referencia del GenBank, n.º de registro NM_001038609.3 (MAPT de *Mus musculus*, SEC ID N.º: 5; complemento inverso, SEC ID N.º: 6); secuencia de referencia del GenBank, n.º de registro: XM_015119954.2 (isoforma 1 de *Macaca mulatta* (mono Rhesus), SEC ID N.º: 7, complemento inverso, SEC ID N.º: 8). Otros ejemplos de secuencias de ARNm de la MAPT están disponibles en bases de datos de acceso público, como GenBank, UniProt, Ensembl y OMIM.

Tal como se describe en el presente documento, MAPT se refiere al gen que codifica la proteína tau asociada a los microtúbulos. El gen MAPT para codificar la proteína tau se encuentra en el cromosoma 17q21, que contiene 16 exones. La principal proteína tau del cerebro humano está codificada por 11 exones. Los exones 2, 3 y 10 se empalman alternativamente, lo que conduce a la formación de seis isoformas de la proteína tau, cuyo tamaño varía entre 352 y 441 aminoácidos. La proteína tau se puede dividir en cuatro dominios: el dominio N-terminal, un dominio rico en prolina, un dominio de unión a microtúbulos y el dominio C-terminal. El dominio N-terminal

participa en el espaciamiento entre los microtúbulos. El dominio rico en prolina participa en la señalización celular y en las interacciones con las proteínas quinasas. El dominio de unión a los microtúbulos es importante para la unión al microtúbulo. El dominio C-terminal es fundamental para regular la polimerización de los microtúbulos. Normalmente, la proteína tau está desplegada y fosforilada. En su forma anormal, como la que se encuentra en los cerebros de pacientes con tauopatías primarias, la proteína tau está hiperfosforilada y agregada, y presenta una configuración de lámina β plegada. La unión de la proteína tau a los microtúbulos está regulada por el equilibrio de fosforilación/desfosforilación de la proteína tau. La hiperfosforilación de la proteína tau da como resultado la pérdida de interacción entre la proteína tau y los microtúbulos, lo que conduce a la pérdida de función de los microtúbulos y a un deterioro del transporte axonal y de la fibrilación de la proteína tau.

A continuación, se describe cómo preparar y utilizar composiciones que comprenden agentes de ARN monocatenario (ARNmc) y ARNbc de la MAPT para inhibir la expresión del gen MAPT, así como composiciones y métodos para tratar enfermedades y afecciones causadas o moduladas por la expresión del gen MAPT. El término “ARNi” también se conoce en la técnica y puede denominarse “ARNip”.

Como se utiliza en el presente documento, el término “ARNi” se refiere a un agente que comprende ARN y participa en la escisión dirigida de un transcrito de ARN a través de una vía del complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC). Como se conoce en la técnica, una región diana de ARNi se refiere a una porción contigua de la secuencia de nucleótidos de una molécula de ARNm formada durante la transcripción de un gen, incluido el ARN mensajero (ARNm) que es un producto del procesamiento del ARN de un producto de transcripción primario. La porción diana de la secuencia será al menos lo suficientemente larga como para servir como sustrato para la escisión dirigida por ARNi en esa porción o cerca de ella. Una secuencia diana puede tener una longitud de 8 a 30 nucleótidos (inclusive), una longitud de 10 a 30 nucleótidos (inclusive), una longitud de 12 a 25 nucleótidos (inclusive), una longitud de 15 a 23 nucleótidos (inclusive), una longitud de 16 a 23 nucleótidos (inclusive) o una longitud de 18 a 23 nucleótidos (inclusive), incluidas todas las longitudes más cortas dentro de cada intervalo establecido. En algunas realizaciones de la invención, una secuencia diana tiene una longitud de 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o 26 nucleótidos. En una determinada realización, una secuencia diana tiene una longitud de entre 9 y 26 nucleótidos (inclusive), incluidos todos los subintervalos y números enteros entre ellos. Por ejemplo, aunque no se pretende ser limitante, en determinadas realizaciones de la invención, una secuencia diana tiene una longitud de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos, con la secuencia completamente o al menos casi complementaria con al

menos parte de un transcrito de ARN del gen MAPT. Algunos aspectos de la invención incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más agentes de ARNbc de la MAPT y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones de la invención, un ARNi de la MAPT, como se describe en el presente documento, inhibe la expresión de la proteína MAPT.

Como se utiliza en el presente documento, un “agente de ARNbc” significa una composición que contiene un ARN o una molécula oligonucleotídica similar al ARN (p. ej., ARN modificado químicamente) que es capaz de degradar o inhibir la traducción de los transcritos de ARN mensajero (ARNm) de un ARNm diana de una manera específica para la secuencia. Aunque no se pretende limitarse a una teoría particular, los agentes de ARNbc de la invención pueden funcionar a través del mecanismo de interferencia de ARN (es decir, inducir la interferencia de ARN a través de la interacción con la maquinaria de la vía de interferencia de ARN [complejo de silenciamiento inducido por ARN o RISC] de células de mamífero) o mediante cualquier mecanismo o vía alternativos. Los métodos para silenciar genes en células de plantas, invertebrados y vertebrados son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Sharp *et al.*, Genes Dev. 2001, 15:485; Bernstein, *et al.*, (2001) Nature 409:363; Nykanen, *et al.*, (2001) Cell 107:309; y Elbashir, *et al.*, (2001) Genes Dev. 15:188), cuya descripción se incorpora al presente documento por referencia en su totalidad. Los procedimientos de silenciamiento génico conocidos en la técnica se pueden utilizar junto con la descripción proporcionada en el presente documento para inhibir la expresión de la MAPT.

Los agentes de ARNbc descritos en el presente documento se componen de una cadena sentido y una cadena antisentido, e incluyen, entre otros, los siguientes: ARN de interferencia cortos (ARNip), agentes de ARNi, micro-ARN (miARN), ARN de horquilla corta (ARNhc) y sustratos de la enzima Dicer. La cadena antisentido de los agentes de ARNbc descritos en el presente documento es al menos parcialmente complementaria al ARNm diana. Se entiende en la técnica que se pueden utilizar diferentes longitudes de la estructura de cadena doble del ARNbc para inhibir la expresión del gen diana. Por ejemplo, se sabe que los ARNbc que tienen una estructura bicatenaria de 19, 20, 21, 22 y 23 pares de bases son eficaces para inducir la interferencia por ARN (Elbashir *et al.*, EMBO 2001, 20:6877-6888). También se sabe en la técnica que las estructuras de cadena doble de ARN más cortas o más largas también son eficaces para inducir la interferencia por ARN. En algunas realizaciones, la cadena sentido y la cadena antisentido pueden tener la misma longitud o longitudes diferentes. En algunas realizaciones, cada cadena tiene no más de 40 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, cada cadena tiene no más de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, cada cadena tiene no más de 25 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, cada cadena tiene no más de 23 nucleótidos

de longitud. En algunas realizaciones, cada cadena tiene no más de 21 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, las cadenas sentido y antisentido de los agentes de ARNi pueden tener una longitud de 15 a 49 nucleótidos cada una. En algunas realizaciones, la cadena antisentido tiene independientemente una longitud de 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos. En algunas realizaciones, la cadena sentido tiene independientemente 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 o 49 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, la cadena sentido y la cadena antisentido tienen ambas una longitud de 21 nucleótidos. En algunas realizaciones, la cadena sentido es complementaria o casi complementaria a la cadena antisentido, y la región de complementariedad tiene entre 15 y 23 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, la región de complementariedad tiene una longitud de 19 a 21 nucleótidos. En algunas realizaciones, la región de complementariedad tiene una longitud de 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos. Los ARNbc de la MAPT en determinadas realizaciones de la invención pueden incluir al menos una cadena de una longitud mínima de 21 nt o pueden tener cadenas dobles más cortas según una de las secuencias establecidas en cualquiera de las Tablas 1 a 3, pero con 1, 2, 3 o 4 nucleótidos menos en uno o ambos extremos también pueden ser efectivos en comparación con los ARNbc establecidos en las Tablas 1 a 3, respectivamente. En algunas realizaciones de la invención, los agentes de ARNbc de la MAPT pueden tener una secuencia parcial de al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más nucleótidos contiguos de una o más secuencias de las Tablas 1 a 3 y diferir en su capacidad para inhibir la expresión de un gen MAPT en no más del 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % o 30 % del nivel de inhibición resultante de un ARNbc que comprende la secuencia completa. Una secuencia sentido, una secuencia antisentido y una cadena doble descritas en las Tablas 1 a 3 se pueden denominar en el presente documento una secuencia “original”, lo que significa que las secuencias descritas en las Tablas 1 a 3 pueden modificarse, acortarse, alargarse, incluir sustituciones, etc., como se establece en el presente documento, y las secuencias resultantes conservan toda o al menos una parte de la eficacia de sus secuencias originales en los métodos y composiciones de la invención. Las cadenas sentido y antisentido incluidas en un ARNbc de la invención se seleccionan independientemente. Tal como se utiliza en el presente documento, el término “seleccionado independientemente” significa que cada uno de dos o más elementos similares puede seleccionarse independientemente de la selección de los otros elementos. Por ejemplo, aunque no pretende ser limitante, al preparar un ARNbc de la invención, uno puede seleccionar los “elementos” de las dos cadenas a incluir en la cadena doble. Un elemento seleccionado, la secuencia sentido, puede ser la SEC ID N.º: 1001 (que se muestra en la Tabla 2), y el otro elemento seleccionado, la secuencia antisentido, puede ser la SEC ID N.º: 1247, o

puede ser la SEC ID N.º: 1247 que está modificada, acortada, alargada y/o incluye 1, 2 o 3 sustituciones en comparación con la secuencia original SEC ID N.º: 1247. Se entenderá que una cadena doble de la invención no necesita incluir secuencias sentido y antisentido que se muestran como emparejadas en cadenas dobles en las Tablas 1 a 3. Cada secuencia de cadena sentido y antisentido en las tablas es seguida inmediatamente por su SEC ID N.º.

Determinadas realizaciones de las composiciones y los métodos de la invención comprenden un ARN monocatenario en una composición y/o administrado a un sujeto. Por ejemplo, una cadena antisentido como una de las que se enumeran en cualquiera de las Tablas 1 a 3 puede ser una composición o estar en una composición administrada a un sujeto para reducir la actividad del polipéptido MAPT y/o la expresión del gen MAPT en el sujeto. La Tabla 1 muestra ciertas secuencias bases de estiramiento de la cadena antisentido y de la cadena sentido del agente de ARNbc de la MAPT. La molécula monocatenaria antisentido que se pueden incluir en determinadas composiciones y/o administrar en determinados métodos de la invención se denomina en el presente documento “agente monocatenario antisentido” o “agente polinucleotídico antisentido”. Las moléculas monocatenarias sentido que se pueden incluir en determinadas composiciones y/o administrar en determinados métodos de la invención se denominan en el presente documento “agente monocatenario sentido” o “agente polinucleotídico sentido”. El término “secuencia base” se utiliza en el presente documento en referencia a una secuencia de polinucleótidos sin modificaciones químicas o compuestos de suministro. Por ejemplo, la cadena sentido CACACGGACGCUGGCCUGAAA (SEC ID N.º: 17) que se muestra en la Tabla 1 es la secuencia base para la SEC ID N.º: 1001 en la Tabla 2 y para la SEC ID N.º: 1486 en la Tabla 3, y la SEC ID N.º: 1001 y la SEC ID N.º: 1486 se muestran con sus modificaciones químicas y un compuesto de suministro. Se pueden asignar identificadores a las secuencias descritas en el presente documento. Por ejemplo, una secuencia monocatenaria sentido puede identificarse como “cadena sentido SS n.º”; una secuencia monocatenaria antisentido puede identificarse como “cadena antisentido AS n.º” y una cadena doble que incluye una cadena de sentido y una cadena antisentido puede identificarse como “cadena doble AD n.º/AV n.º”.

La Tabla 1 incluye cadenas sentido y antisentido, y proporciona el número de identificación de las cadenas dobles formadas a partir de la cadena sentido y antisentido en la misma línea en la Tabla 1. En determinadas realizaciones de la invención, una secuencia antisentido incluye la nucleobase U o la nucleobase A en la posición 1 de la secuencia antisentido. En determinadas realizaciones de la invención, una secuencia antisentido incluye la nucleobase U en la posición 1 de la secuencia antisentido. Como se usa en el presente documento, el término “posición complementaria” en una cadena sentido y antisentido son las posiciones en cada cadena que se

“emparejan” cuando ambas cadenas forman cadenas dobles. Por ejemplo, en una cadena sentido de 21 nucleobases y una cadena antisentido de 21 nucleobases, la nucleobase en la posición 1 de la cadena sentido y la posición 21 de la cadena antisentido están en “posiciones complementarias”. En otro ejemplo no limitante, en una cadena sentido de 23 nucleobases y una cadena antisentido de 23 nucleobases, la nucleobase 2 de la cadena sentido y la posición 22 de la cadena antisentido están en posiciones complementarias. En otro ejemplo no limitante, en una cadena sentido de 18 nucleobases y una cadena antisentido de 18 nucleobases, la nucleobase en la posición 1 de la cadena sentido y la nucleobase 18 de la cadena antisentido están en posiciones complementarias, y la nucleobase 4 de la cadena sentido y la nucleobase 15 de la cadena antisentido están en posiciones complementarias. Un experto en la técnica entenderá cómo identificar las posiciones complementarias en las cadenas sentido y antisentido que son o serán cadenas dobles y cadenas emparejadas.

La última columna de la Tabla 1 indica una cadena doble AV n.º para una cadena doble que incluye las secuencias sentido y antisentido en la misma fila de la tabla. Por ejemplo, la Tabla 1 describe la cadena doble designada como cadena doble AV03736.um, que incluye la cadena sentido SEC ID N.º: 17 y la cadena antisentido SEC ID N.º: 509. De este modo, cada fila de la Tabla 1 identifica una cadena doble de la invención, cada una de las cuales comprende las secuencias sentido y antisentido que se muestran en la misma fila, y el identificador asignado para cada cadena doble se muestra en la primera columna de la fila.

En algunas realizaciones de los métodos de la invención, se administra a un sujeto un agente de ARNi que comprende una secuencia de polinucleótidos que se muestra en cualquiera de las Tablas 1 a 3. En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNi administrado a un sujeto comprende una cadena doble que comprende al menos una de las secuencias bases establecidas en la Tabla 1, incluidas 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 modificaciones de secuencia. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, un agente de ARNi que comprende una secuencia de polinucleótidos que se muestra en cualquiera de las Tablas 1 a 3 se une a una molécula de suministro, un ejemplo no limitante de la cual es un compuesto de suministro que comprende un compuesto GalNAc o un compuesto GLS-15*.

Tabla 1: Secuencias de cadena antisentido y cadena sentido del agente de ARNi de la MAPT sin modificar. Todas las secuencias se muestran en dirección 5' a 3'. Cadena doble AV n.º es el número asignado a la cadena doble de las dos cadenas en la misma fila de la tabla.

Cadena doble AV n.º	Cadena sentido	SEC ID N.º	Cadena antisentido	SEC ID N.º	Posición en NM_ 001377265.1
AV03728.um	GCCUCCUCCGCUGUCCUCUCA	9	UGAGAGGACAGCGGAGGAGGC	501	88-108
AV03729.um	GGGAGUUCGAAGUGAUGGAAA	10	UUUCCAUCACUUCGAACUCCC	502	167-187
AV03730.um	CGAGUUCGAAGUGAUGGAAGA	11	UCUCCAUCACUUCGAACUCG	503	168-188
AV03731.um	CAGUUCGAAGUGAUGGAAGAA	12	UUCUCCAUCACUUCGAACUG	504	169-189
AV03732.um	GGUUCGAAGUGAUGGAAGAU	13	UAUCUCCAUCACUUCGAACC	505	170-190
AV03733.um	CUUCGAAGUGAUGGAAGAUA	14	UGAUCUCCAUCACUUCGAAG	506	171-191
AV03734.um	GUCGAAGUGAUGGAAGAUCAA	15	UUGAUCUCCAUCACUUCGAC	507	172-192
AV03735.um	CGGCUACACCAUGCACCAAGA	16	UCUUGGUGCAUGGUGUAGCCG	508	231-251
AV03736.um	CACACGGACGCUGGCCUGAAA	17	UUUCAGGCCAGCGUCCGUGUG	509	262-282
AV03737.um	GACCCCCAGCCUGGAAGACGA	18	UCGUCUCCAGGCUGGGGGUC	510	393-413
AV03738.um	CAAGCUGCUGGUCACGUGACA	19	UGUCACGUGACCAGCAGCUUG	511	412-432
AV03739.um	GAAAGCUCGCAUGGUCAGUAA	20	UUACUGACCAUGCGAGCUUUC	512	1497-1517

AV03740.um	GAAGCUCGCAUGGUCAGUAAA	21	UUUACUGACCAUGCGAGCUUC	513	1498-1518
AV03741.um	GGCUCGCAUGGUCAGUAAAAA	22	UUUUUACUGACCAUGCGAGCC	514	1500-1520
AV03742.um	GUCGCAUGGUCAGUAAAAGCA	23	UGCUIUUUACUGACCAUGCGAC	515	1502-1522
AV03743.um	GCGCAUGGUCAGUAAAAGCAA	24	UUGCUUUUACUGACCAUGCGC	516	1503-1523
AV03744.um	GGCAUGGUCAGUAAAAGCAAA	25	UUUGCUUUUACUGACCAUGCC	517	1504-1524
AV03745.um	CCAUGGUCAGUAAAAGCAAAA	26	UUUUGCUUUUACUGACCAUGG	518	1505-1525
AV03746.um	GAUGGUCAGUAAAAGCAAAGA	27	UCUUUGCUUUUACUGACCAUC	519	1506-1526
AV03747.um	GUGGUCAGUAAAAGCAAAGAA	28	UUCUUUGCUUUUACUGACCAC	520	1507-1527
AV03748.um	GGGUCAGUAAAAGCAAAGACA	29	UGUCUUUGCUUUUACUGACCC	521	1508-1528
AV03749.um	CGACUGGAAGCGAUGACAAAA	30	UUUUGUCAUCGCUUCCAGUCG	522	1529-1549
AV03750.um	CACUGGAAGCGAUGACAAAAA	31	UUUUUGUCAUCGCUUCCAGUG	523	1530-1550
AV03751.um	GGGAAGCGAUGACAAAAAAGA	32	UCUUUUUUGUCAUCGCUUCCC	524	1533-1553
AV03752.um	CGAAGCGAUGACAAAAAAGCA	33	UGCUIUUUUGUCAUCGCUUCG	525	1534-1554
AV03753.um	GAGCGAUGACAAAAAAGCCAA	34	UUGGCUUUUUGUCAUCGCUC	526	1536-1556
AV03754.um	GGCGAUGACAAAAAAGCCAAA	35	UUUGGCUUUUUGUCAUCGCC	527	1537-1557

AV03755.um	GUCAAGGGGGCUGAUGGUAAA	36	UUUACCAUCAGCCCCCUUGAC	528	1750-1770
AV03756.um	CGGGCUGAUGGUAAAACGAAA	37	UUUCGUUUUACCAUCAGCCCG	529	1756-1776
AV03757.um	CGGCUGAUGGUAAAACGAAGA	38	UCUUCGUUUUACCAUCAGCCG	530	1757-1777
AV03758.um	CCUGAUGGUAAAACGAAGAU	39	UAUCUUCGUUUUACCAUCAGG	531	1759-1779
AV03759.um	GUGAUGGUAAAACGAAGAUCA	40	UGAUCUUCGUUUUACCAUCAC	532	1760-1780
AV03760.um	GGAUGGUAAAACGAAGAUCA	41	UCGAUCUUCGUUUUACCAUCC	533	1761-1781
AV03761.um	GGCCACCAGGAUUCCAGCAAA	42	UUUGCUGGAAUCCUGGUGGCC	534	1827-1847
AV03762.um	GCAGGAUUCCAGCAAAAACCA	43	UGGUUUUUGCUGGAAUCCUGC	535	1832-1852
AV03763.um	GACCACCCAGCUCUGGUGAAA	44	UUUCACCAGAGCUGGGUGGUC	536	1868-1888
AV03764.um	GCUGGUGAACCUCCAAAAUCA	45	UGAUUUUUGGAGGUUCACCAGC	537	1879-1899
AV03765.um	GUGGUGAACCUCCAAAAUCAA	46	UUGAUUUUUGGAGGUUCACCAC	538	1880-1900
AV03766.um	GACCUCCAAAAUCAGGGGAUA	47	UAUCCCCUGAUUUUGGAGGUC	539	1886-1906
AV03767.um	GUCGGCUCCACUGAGAACCUA	48	UAGGUUCUCAGUGGAGCCGAC	540	2104-2124
AV03768.um	GGUGUGCAAAUAGUCUACAAA	49	UUUGUAGACUAUUUGCACACC	541	2239-2259
AV03769.um	CUGUGCAAAUAGUCUACAAAA	50	UUUUGUAGACUAUUUGCACAG	542	2240-2260

AV03770.um	GGUGCAAUAGUCUACAAACA	51	UGUUUGUAGACUAUUUGCACC	543	2241-2261
AV03771.um	CUGCAAUAGUCUACAAACCA	52	UGGUUUGUAGACUAUUUGCAG	544	2242-2262
AV03772.um	GGCAAUAGUCUACAAACCAA	53	UUGGUUUGUAGACUAUUUGCC	545	2243-2263
AV03773.um	GAAUAGUCUACAAACCAGUUA	54	UACUGGUUUGUAGACUAUUC	546	2246-2266
AV03774.um	GAUAGUCUACAAACCAGUUGA	55	UCAACUGGUUUGUAGACUAUC	547	2247-2267
AV03775.um	GUAGUCUACAAACCAGUUGAA	56	UUCAACUGGUUUGUAGACUAC	548	2248-2268
AV03776.um	GUACAAACCAGUUGACCUGAA	57	UUCAGGUCAACUGGUUUGUAC	549	2253-2273
AV03777.um	CCAAGGUGACCUCCAAGUGUA	58	UACACUUGGAGGUCACCUUGG	550	2273-2293
AV03778.um	GGACCUCCAAGUGUGGCUCAA	59	UUGAGCCACACUUGGAGGUCC	551	2279-2299
AV03779.um	GCCUCCAAGUGUGGCUCAUUA	60	UAAUGAGCCACACUUGGAGGC	552	2281-2301
AV03780.um	GUCCAAGUGUGGCUCAUUGA	61	UCUAAUGAGCCACACUUGGAC	553	2283-2303
AV03781.um	CUGUGGCUCAUUGGCAACAA	62	UUGUUGCCUAAUGAGCCACAG	554	2289-2309
AV03782.um	CUGGCUCAUUGGCAACAUCA	63	UGAUGUUGCCUAAUGAGCCAG	555	2291-2311
AV03783.um	CGCUCAUUGGCAACAUCCAA	64	UUGGAUGUUGCCUAAUGAGCG	556	2293-2313
AV03784.um	CCUCAUUGGCAACAUCUA	65	UAUGGAUGUUGCCUAAUGAGG	557	2294-2314

AV03785.um	GCAUUAGGCAACAUCCAUCAA	66	UUGAUGGAUGUUGCCUAAUGC	558	2296-2316
AV03786.um	GUUAGGCAACAUCCAUCAUAA	67	UUAUGAUGGAUGUUGCCUAAAC	559	2298-2318
AV03787.um	GUAGGCAACAUCCAUCAUAAA	68	UUUAUGAUGGAUGUUGCCUAC	560	2299-2319
AV03788.um	GGGCAACAUCCAUCAUAAACA	69	UGUUUAUGAUGGAUGUUGCCC	561	2301-2321
AV03789.um	CCAACAUCCAUCAUAAACCAA	70	UUGGUUUUAUGAUGGAUGUUGG	562	2303-2323
AV03790.um	GACAUCCAUCAUAAACCAGGA	71	UCCUGGUUUUAUGAUGGAUGUC	563	2305-2325
AV03791.um	GCAGGUGGAAGUAAAAUCUGA	72	UCAGAUUUUACUUCCACCUGC	564	2331-2351
AV03792.um	GAGGUGGAAGUAAAAUCUGAA	73	UUCAGAUUUUACUUCCACCUC	565	2332-2352
AV03793.um	GGGUGGAAGUAAAAUCUGAGA	74	UCUCAGAUUUUACUUCCACCC	566	2333-2353
AV03794.um	CGUGGAAGUAAAAUCUGAGAA	75	UUCUCAGAUUUUACUUCCACG	567	2334-2354
AV03795.um	CUGGAAGUAAAAUCUGAGAAA	76	UUUCUCAGAUUUUACUUCCAG	568	2335-2355
AV03796.um	GGGAAGUAAAAUCUGAGAAGA	77	UCUUCUCAGAUUUUACUUCCC	569	2336-2356
AV03797.um	CAAGUAAAAUCUGAGAAGCUA	78	UAGCUUCUCAGAUUUUACUUG	570	2338-2358
AV03798.um	GAGUAAAAUCUGAGAAGCUUA	79	UAAGCUUCUCAGAUUUUACUC	571	2339-2359
AV03799.um	CUAAAAUCUGAGAAGCUUGAA	80	UUCAAGCUUCUCAGAUUUUAG	572	2341-2361

AV03800.um	GCUGAGAAGCUUGACUUCAAA	81	UUUGAAGUCAAGCUUCUCAGC	573	2347-2367
AV03801.um	GUGAGAAGCUUGACUUCAAGA	82	UCUUGAAGUCAAGCUUCUCAC	574	2348-2368
AV03802.um	GGAAGCUUGACUUCAAGGACA	83	UGUCCUUGAAGUCAAGCUUCC	575	2351-2371
AV03803.um	CAAGCUUGACUUCAAGGACAA	84	UUGUCCUUGAAGUCAAGCUUG	576	2352-2372
AV03804.um	GAAGGACAGAGUCCAGUCGAA	85	UUCGACUGGACUCUGUCCUUC	577	2364-2384
AV03805.um	GCAGAGUCCAGUCGAAGAUUA	86	UAAUCUUCGACUGGACUCUGC	578	2369-2389
AV03806.um	GUGGCGGAGGAAAUAAAAAGA	87	UCUUUUUAUUUCCUCCGCCAC	579	2417-2437
AV03807.um	CGCGGAGGAAAUAAAAAGAUUA	88	UAUCUUUUUAUUUCCUCCGCG	580	2419-2439
AV03808.um	GAAUAAAAAGAUUGAAACCCA	89	UGGGUUUCAAUUUUUUAUUC	581	2427-2447
AV03809.um	GAAAAGAUUGAAACCCACAAA	90	UUUGUGGGUUUCAAUUUUUC	582	2431-2451
AV03810.um	GGGAGAUCGUGUACAAGUCGA	91	UCGACUUGUACACGAUCUCCC	583	2495-2515
AV03811.um	CCAUCUCAGCAAUGUCUCCUA	92	UAGGAGACAUUGCUGAGAUGG	584	2544-2564
AV03812.um	GACCGGCAGCAUCGACAUGGA	93	UCCAUGUCGAUGCUGCCGGUC	585	2565-2585
AV03813.um	GAGCAUCGACAUGGUAGACUA	94	UAGUCUACCAUGUCGAUGCUC	586	2571-2591
AV03814.um	CCCACGCUAGCUGACGAGGUA	95	UACCUCGUCAGCUAGCGUGGG	587	2602-2622

AV03815.um	CCCAAGCAGGGUUUGUGAUCA	96	UGAUCACAAACCCUGCUUGGG	588	2635-2655
AV03816.um	GCAAGCAGGGUUUGUGAUCAA	97	UUGAUCACAAACCCUGCUUGC	589	2636-2656
AV03817.um	GUGAGAGAGUGUGGAAAAAAA	98	UUUUUUUCCACACUCUCUCAC	590	2693-2713
AV03818.um	GAAAAAAGAAUAAUGACCCA	99	UGGGUCAUUAUUCUUUUUUUC	591	2708-2728
AV03819.um	GUCCUCGCAGUUCGGUUAUA	100	UAUUAACCGAACUGCGAGGAC	592	2753-2773
AV03820.um	GAAUUGGUUAAUCACUUAACA	101	UGUUAAGUGAUUAACCAAUUC	593	2769-2789
AV03821.um	GAUUGGUUAAUCACUUAACCA	102	UGGUUAAGUGAUUAACCAAUC	594	2770-2790
AV03822.um	GUGGUUAAUCACUUAACCUGA	103	UCAGGUUAAGUGAUUAACCAC	595	2772-2792
AV03823.um	GAAUCACUUAACCUGCUUUUA	104	UAAAAGCAGGUUAAGUGAUUC	596	2777-2797
AV03824.um	GAUCACUUAACCUGCUUUUGA	105	UCAAAGCAGGUUAAGUGAUC	597	2778-2798
AV03825.um	GUCACUUAACCUGCUUUUGUA	106	UACAAAAGCAGGUUAAGUGAC	598	2779-2799
AV03826.um	GCACUUAACCUGCUUUUGUCA	107	UGACAAAAGCAGGUUAAGUGC	599	2780-2800
AV03827.um	CGCUCGGGACUUCAAAAUCAA	108	UUGAUUUUGAAGUCCCGAGCG	600	2810-2830
AV03828.um	GUCGGGACUUCAAAAUCAGUA	109	UACUGAUUUUGAAGUCCCGAC	601	2812-2832
AV03829.um	CGACUUCAAAAUCAGUGAUGA	110	UCAUCACUGAUUUUGAAGUCG	602	2816-2836

AV03830.um	CACUUCAAAAUCAGUGAUGGA	111	UCCAUCACUGAUUUUGAAGUG	603	2817-2837
AV03831.um	GAAGAGCAAAUUUCAUCUUUA	112	UAAAGAUGAAAUUUGCUCUUC	604	2840-2860
AV03832.um	GAGAGCAAAUUUCAUCUUUCA	113	UGAAAGAUGAAAUUUGCUCUC	605	2841-2861
AV03833.um	GGAGCAAAUUUCAUCUUUCCA	114	UGGAAAGAUGAAAUUUGCUC	606	2842-2862
AV03834.um	CAGCAAAUUUCAUCUUUCCAA	115	UUGGAAAGAUGAAAUUUGCUG	607	2843-2863
AV03835.um	GGCAAAUUUCAUCUUUCCAAA	116	UUUGGAAAGAUGAAAUUUGCC	608	2844-2864
AV03836.um	CCAAAUUUCAUCUUUCCAAAA	117	UUUUGGAAAGAUGAAAUUUGG	609	2845-2865
AV03837.um	GAAAUUUCAUCUUUCCAAUA	118	UAUUUGGAAAGAUGAAAUUC	610	2846-2866
AV03838.um	GAAUUUCAUCUUUCCAAAUUA	119	UAAUUUGGAAAGAUGAAAUUC	611	2847-2867
AV03839.um	GAUUUCAUCUUUCCAAAUUGA	120	UCAAUUUGGAAAGAUGAAAUUC	612	2848-2868
AV03840.um	GUUCAUCUUUCCAAAUUGAUA	121	UAUCAAUUUGGAAAGAUGAAC	613	2850-2870
AV03841.um	CGGUGGGCUAGUAAUAAAAUA	122	UAUUUUAAUUACUAGCCCACCG	614	2870-2890
AV03842.um	GGGGCUAGUAAUAAAAUAUUA	123	UAAUAUUUUAAUUACUAGCCCC	615	2873-2893
AV03843.um	GCAGGCAAUCCUUUUGAUUA	124	UAAUCAAAAGGAAUUGCCUGC	616	2935-2955
AV03844.um	GGGCAAUCCUUUUGAUUCUA	125	UAGAAUCAAAAGGAAUUGCCC	617	2937-2957

AV03845.um	CGCAGCAACAAAGGAUUUGAA	126	UUCAAAUCCUUUGUUGCUGCG	618	3082-3102
AV03846.um	GAGCAACAAAGGAUUUGAAAA	127	UUUUCAAAUCCUUUGUUGCUC	619	3084-3104
AV03847.um	GGCAACAAAGGAUUUGAAACA	128	UGUUUCAAUCCUUUGUUGCC	620	3085-3105
AV03848.um	CCAACAAAGGAUUUGAAACUA	129	UAGUUCAAUCCUUUGUUGG	621	3086-3106
AV03849.um	GAACAAAGGAUUUGAAACUUA	130	UAAGUUCAAUCCUUUGUUC	622	3087-3107
AV03850.um	GACAAAGGAUUUGAAACUUGA	131	UCAAGUUCAAUCCUUUGUC	623	3088-3108
AV03851.um	GCAAAGGAUUUGAAACUUGGA	132	UCCAAGUUCAAUCCUUUGC	624	3089-3109
AV03852.um	GAAAGGAUUUGAAACUUGGUA	133	UACCAAGUUCAAUCCUUUC	625	3090-3110
AV03853.um	GAGGAUUUGAAACUUGGUGUA	134	UACACCAAGUUCAAUCCUC	626	3092-3112
AV03854.um	GGGAUUUGAAACUUGGUGUGA	135	UCACACCAAGUUCAAUCCC	627	3093-3113
AV03855.um	CAUUUGAAACUUGGUGUGUUA	136	UAACACACCAAGUUCAAUG	628	3095-3115
AV03856.um	GUUUGAAACUUGGUGUGUUA	137	UGAACACACCAAGUUCAAAC	629	3096-3116
AV03857.um	GGCCAUGAUUUUGGCCACUUA	138	UAAGUGGCCAAAUCAUGGCC	630	3609-3629
AV03858.um	GUUGGCCACUUUGCAGACCUA	139	UAGGUCUGCAAAGUGGCCAAC	631	3618-3638
AV03859.um	GUUUGCAGACCUGGGACUUA	140	UAAAGUCCCAGGUCUGCAAAC	632	3626-3646

AV03860.um	CACCUGGGACUUUAGGGCUAA	141	UUAGCCCUAAAGUCCCAGGUG	633	3633-3653
AV03861.um	CACUUUAGGGCUAACCAGUUA	142	UACUGGUUAGCCCUAAAGUG	634	3640-3660
AV03862.um	CGGCUAACCAGUUCUCUUUGA	143	UCAAAGAGAACUGGUUAGCCG	635	3647-3667
AV03863.um	CGCUAACCAGUUCUCUUUGUA	144	UACAAAGAGAACUGGUUAGCG	636	3648-3668
AV03864.um	GUAACCAGUUCUCUUUGUAAA	145	UUUACAAAGAGAACUGGUUAC	637	3650-3670
AV03865.um	GAACCAGUUCUCUUUGUAAGA	146	UCUUACAAAGAGAACUGGUUC	638	3651-3671
AV03866.um	GACCAGUUCUCUUUGUAAGGA	147	UCCUUACAAAGAGAACUGGUC	639	3652-3672
AV03867.um	GCCAGUUCUCUUUGUAAGGAA	148	UUCCUUACAAAGAGAACUGGC	640	3653-3673
AV03868.um	GCAGUUCUCUUUGUAAGGACA	149	UGUCCUUACAAAGAGAACUGC	641	3654-3674
AV03869.um	GGUUCUCUUUGUAAGGACUUA	150	UAAGUCCUUACAAAGAGAACC	642	3656-3676
AV03870.um	GUCUCUUUGUAAGGACUUGUA	151	UACAAGUCCUUACAAAGAGAC	643	3658-3678
AV03871.um	GAAUCACUGCCUAUACCCCUA	152	UAGGGGUUAUAGGCAGUGAUUC	644	3834-3854
AV03872.um	GUACUCCAUACUGAGGGUGAA	153	UUCACCCUCAGUAUGGAGUAC	645	3933-3953
AV03873.um	GCAUACUGAGGGUGAAAUUA	154	UUAAUUUCACCCUCAGUAUGC	646	3938-3958
AV03874.um	GAUACUGAGGGUGAAAUUAAA	155	UUUAAUUUCACCCUCAGUAUC	647	3939-3959

AV03875.um	GUACUGAGGGUGAAAUUAAGA	156	UCUUAUUUCACCCUCAGUAC	648	3940-3960
AV03876.um	GACUGAGGGUGAAAUUAAGGA	157	UCCUUAUUUCACCCUCAGUC	649	3941-3961
AV03877.um	CAGGGUGAAAUUAAGGGAAGA	158	UCUUCCCUUAAUUUCACCCUG	650	3945-3965
AV03878.um	CGACCCAGCCUCUCACUCUA	159	UAGAGUGAGAGGCUGGGGUCG	651	3987-4007
AV03879.um	GAGCCUCUCACUCUCAGUUCA	160	UGAACUGAGAGUGAGAGGCUC	652	3993-4013
AV03880.um	CCCUCUCACUCUCAGUCCAA	161	UUGGAACUGAGAGUGAGAGGG	653	3995-4015
AV03881.um	GCACUCUCAGUCCACUCAUA	162	UAUGAGUGGAACUGAGAGUGC	654	4000-4020
AV03882.um	GACUCUCAGUCCACUCAUCA	163	UGAUGAGUGGAACUGAGAGUC	655	4001-4021
AV03883.um	GUCAGUCCACUCAUCCAACA	164	UGUUGGAUGAGUGGAACUGAC	656	4005-4025
AV03884.um	GUAGGUGUUUCUGCCUUGUUA	165	UAACAAGGCAGAAACACCUAC	657	4118-4138
AV03885.um	CUGUUUCUGCCUUGUUGACAA	166	UUGUCAACAAGGCAGAAACAG	658	4122-4142
AV03886.um	GGUUUCUGCCUUGUUGACAUA	167	UAUGUCAACAAGGCAGAAACC	659	4123-4143
AV03887.um	CCUGGAAGCCAUGCUGUCUGA	168	UCAGACAGCAUGGCUUCCAGG	660	4424-4444
AV03888.um	CGAAGCCAUGCUGUCUGUUCA	169	UGAACAGACAGCAUGGCUUCG	661	4427-4447
AV03889.um	GAGCCAUGCUGUCUGUUCUGA	170	UCAGAACAGACAGCAUGGCUC	662	4429-4449

AV03890.um	CCCAUGCUGUCUGUUCUGCUA	171	UAGCAGAACAGACAGCAUGGG	663	4431-4451
AV03891.um	CCUGGAGCAGCUGAACAUUAUA	172	UAUAUGUUCAGCUGCUCCAGG	664	4448-4468
AV03892.um	GUGGAGCAGCUGAACAUUAUAA	173	UUAUAUGUUCAGCUGCUCCAC	665	4449-4469
AV03893.um	CAGCAGCUGAACAUUAUACAUA	174	UAUGUAUAUGUUCAGCUGCUG	666	4452-4472
AV03894.um	CCAGCUGAACAUUAUACAUAGA	175	UCUAUGUAUAUGUUCAGCUGG	667	4454-4474
AV03895.um	GAGCUGAACAUUAUACAUAGAA	176	UUCUAUGUAUAUGUUCAGCUC	668	4455-4475
AV03896.um	GGCUGAACAUUAUACAUAGAUUA	177	UAUCUAUGUAUAUGUUCAGCC	669	4456-4476
AV03897.um	CCUGAACAUUAUACAUAGAUGA	178	UCAUCUAUGUAUAUGUUCAGG	670	4457-4477
AV03898.um	GUGAACAUUAUACAUAGAUGUA	179	UACAUCUAUGUAUAUGUUCAC	671	4458-4478
AV03899.um	GGAACAUAUACAUAGAUGUUA	180	UAACAUCUAUGUAUAUGUUCC	672	4459-4479
AV03900.um	CAACAUAUACAUAGAUGUUGA	181	UCAACAUCUAUGUAUAUGUUG	673	4460-4480
AV03901.um	GACAUAUACAUAGAUGUUGCA	182	UGCAACAUCUAUGUAUAUGUC	674	4461-4481
AV03902.um	GGAGUUGUAGUUGGAUUUGUA	183	UACAAAUCCAACUACAACUCC	675	4506-4526
AV03903.um	CAGUUGUAGUUGGAUUUGUCA	184	UGACAAAUCCAACUACAACUG	676	4507-4527
AV03904.um	GGUUGUAGUUGGAUUUGUCUA	185	UAGACAAAUCCAACUACAACC	677	4508-4528

AV03905.um	CUUGUAGUUGGAUUUGUCUGA	186	UCAGACAAAUCCAACUACAAG	678	4509-4529
AV03906.um	GUGUAGUUGGAUUUGUCUGUA	187	UACAGACAAAUCCAACUACAC	679	4510-4530
AV03907.um	GGUAGUUGGAUUUGUCUGUUA	188	UAAACAGACAAAUCCAACUACC	680	4511-4531
AV03908.um	CUAGUUGGAUUUGUCUGUUUA	189	UAAACAGACAAAUCCAACUAG	681	4512-4532
AV03909.um	GAGUUGGAUUUGUCUGUUUAA	190	UUAAACAGACAAAUCCAACUC	682	4513-4533
AV03910.um	GGUUGGAUUUGUCUGUUUAUA	191	UAUAAACAGACAAAUCCAACC	683	4514-4534
AV03911.um	CUUGGAUUUGUCUGUUUAUGA	192	UCAUAAACAGACAAAUCCAAG	684	4515-4535
AV03912.um	GUGGAUUUGUCUGUUUAUGCA	193	UGCAUAAACAGACAAAUCCAC	685	4516-4536
AV03913.um	GGGAUUUGUCUGUUUAUGCUA	194	UAGCAUAAACAGACAAAUCCC	686	4517-4537
AV03914.um	CGAUUUGUCUGUUUAUGCUUA	195	UAAGCAUAAACAGACAAAUCG	687	4518-4538
AV03915.um	CAUUUGUCUGUUUAUGCUUGA	196	UCAAGCAUAAACAGACAAAUG	688	4519-4539
AV03916.um	GUUUGUCUGUUUAUGCUUGGA	197	UCCAAGCAUAAACAGACAAAC	689	4520-4540
AV03917.um	GUUGUCUGUUUAUGCUUGGAA	198	UCCAAGCAUAAACAGACAAC	690	4521-4541
AV03918.um	GUGUCUGUUUAUGCUUGGAUA	199	UAUCCAAGCAUAAACAGACAC	691	4522-4542
AV03919.um	GGUCUGUUUAUGCUUGGAUUA	200	UAAUCCAAGCAUAAACAGACC	692	4523-4543

AV03920.um	CUCUGUUUAUGCUUGGAUUCA	201	UGAAUCCAAGCAUAAACAGAG	693	4524-4544
AV03921.um	GCUGUUUAUGCUUGGAUUCAA	202	UUGAAUCCAAGCAUAAACAGC	694	4525-4545
AV03922.um	GUGUUUAUGCUUGGAUUCACA	203	UGUGAAUCCAAGCAUAAACAC	695	4526-4546
AV03923.um	GUAUGCUUGGAUUCACCAGAA	204	UUCUGGUGAAUCCAAGCAUAC	696	4530-4550
AV03924.um	GGGAUUCACCAGAGUGACUAA	205	UUAGUCACUCUGGUGAAUCCC	697	4537-4557
AV03925.um	CGAUUCACCAGAGUGACUAUA	206	UAUAGUCACUCUGGUGAAUCG	698	4538-4558
AV03926.um	CAUUCACCAGAGUGACUAUGA	207	UCAUAGUCACUCUGGUGAAUG	699	4539-4559
AV03927.um	GAAAAAAAAAAGGACGCAUGUA	208	UACAUGCGUCCUUUUUUUUC	700	4578-4598
AV03928.um	GAAAAAAAAAAGGACGCAUGUAA	209	UUACAUGCGUCCUUUUUUUUC	701	4579-4599
AV03929.um	GAAAAAAAGGACGCAUGUAUA	210	UAUACAUGCGUCCUUUUUUUUC	702	4580-4600
AV03930.um	GAAAAAAGGACGCAUGUAUCA	211	UGAUACAUGCGUCCUUUUUUC	703	4581-4601
AV03931.um	GAAAAGGACGCAUGUAUCUUA	212	UAAGAUACAUGCGUCCUUUUC	704	4583-4603
AV03932.um	GAAAGGACGCAUGUAUCUUGA	213	UCAAGAUACAUGCGUCCUUUC	705	4584-4604
AV03933.um	GAAGGACGCAUGUAUCUUGAA	214	UUCAAGAUACAUGCGUCCUUC	706	4585-4605
AV03934.um	GAGGACGCAUGUAUCUUGAAA	215	UUUCAAGAUACAUGCGUCCUC	707	4586-4606

AV03935.um	CGACGCAUGUAUCUUGAAAUA	216	UAUUUCAAGAUACAUGCGUCG	708	4588-4608
AV03936.um	GCAACUCCUGCAUCACAAGAA	217	UUCUUGUGAUGCAGGAGUUGC	709	4961-4981
AV03937.um	CACUCACUUUAUCAAUAGUUA	218	UACCUAUUGAUAAAGUGAGUG	710	5941-5961
AV03938.um	GCUCACUUUAUCAAUAGUUCA	219	UGAACUAUUGAUAAAGUGAGC	711	5942-5962
AV03939.um	GUCACUUUAUCAAUAGUUGCA	220	UGGAACUAUUGAUAAAGUGAC	712	5943-5963
AV03940.um	GCACUUUAUCAAUAGUUGCAA	221	UUGGAACUAUUGAUAAAGUGC	713	5944-5964
AV03941.um	GCUUUAUCAAUAGUUGCAUUA	222	UAAUGGAACUAUUGAUAAAGC	714	5946-5966
AV03942.um	GUUAUCAAUAGUUGCAUUUAA	223	UUAAAUGGAACUAUUGAUAAAC	715	5948-5968
AV03943.um	GUAUCAAUAGUUGCAUUUAAA	224	UUUAAAUGGAACUAUUGAUAC	716	5949-5969
AV03944.um	GAAUAGUUGCAUUUAAAUUGA	225	UCAAUUUAAAUGGAACUAUUC	717	5953-5973
AV03945.um	GAUAGUUGCAUUUAAAUUGAA	226	UUCAAUUUAAAUGGAACUAUC	718	5954-5974
AV03946.um	GUAGUUGCAUUUAAAUUGACA	227	UGUCAAUUUAAAUGGAACUAC	719	5955-5975
AV03947.um	CUUGCAUUUAAAUUGACUUCA	228	UGAAGUCAAUUUAAAUGGAAG	720	5958-5978
AV03948.um	GACUUGCAAGUCCCAUGAUUA	229	UAAUCAUGGGACUUGCAAGUC	721	6635-6655
AV03949.um	GUUGCAAGUCCCAUGAUUUCA	230	UGAAAUCAUGGGACUUGCAAC	722	6637-6657

AV03950.um	GUGCAAGUCCCAUGAUUUCUA	231	UAGAAAUCAUGGGACUUGCAC	723	6638-6658
AV03951.um	GGCAAGUCCCAUGAUUUCUUA	232	UAAGAAAUCAUGGGACUUGCC	724	6639-6659
AV03952.um	GGAAAUCAUCUUAGCUUAGCA	233	UGCUAAGCUAAGAUGAUUUCC	725	6688-6708
AV03953.um	GAAUCAUCUUAGCUUAGCUUA	234	UAAGCUAAGCUAAGAUGAUUC	726	6690-6710
AV03954.um	GGUCUAUAUAGUGUAUUGUGA	235	UCACAAUACACUAUAUAGACC	727	6722-6742
AV03955.um	GAAUGAUUUACACUGACUGUA	236	UACAGUCAGUGUAAAUCAUUC	728	6751-6771
AV03956.um	GUGAUUUACACUGACUGUUGA	237	UCAACAGUCAGUGUAAAUCAC	729	6753-6773
AV03957.um	GUUACACUGACUGUUGCUGUA	238	UACAGCAACAGUCAGUGUAAC	730	6757-6777
AV03958.um	GUACACUGACUGUUGCUGUAA	239	UUACAGCAACAGUCAGUGUAC	731	6758-6778
AV03959.um	GACACUGACUGUUGCUGUAAA	240	UUUACAGCAACAGUCAGUGUC	732	6759-6779
AV03960.um	GCACUGACUGUUGCUGUAAAA	241	UUUUACAGCAACAGUCAGUGC	733	6760-6780
AV03961.um	GCUGACUGUUGCUGUAAAAGA	242	UCUUUUACAGCAACAGUCAGC	734	6762-6782
AV03962.um	GUGACUGUUGCUGUAAAAGUA	243	UACUUUUACAGCAACAGUCAC	735	6763-6783
AV03963.um	GGACUGUUGCUGUAAAAGUGA	244	UCACUUUUACAGCAACAGUCC	736	6764-6784
AV03964.um	CACUGUUGCUGUAAAAGUGAA	245	UUCACUUUUACAGCAACAGUG	737	6765-6785

AV03965.um	GCUGUUGCUGUAAAAGUGAAA	246	UUUCACUUUUACAGCAACAGC	738	6766-6786
AV03966.um	GUGUUGCUGUAAAAGUGAAUA	247	UAUUCACUUUUACAGCAACAC	739	6767-6787
AV03967.um	CCUGUAAAAGUGAAUUUGGAA	248	UUCCAAUUCACUUUUACAGG	740	6772-6792
AV03968.um	GUGUAAAAGUGAAUUUGGAAA	249	UUUCCAAUUCACUUUUACAC	741	6773-6793
AV03969.um	GGUGAAUUUGGAAUAAAGUA	250	UACUUUAUUUCCAAUUCACC	742	6780-6800
AV03970.um	GGGAAUAAAGUUAUUACUCA	251	UGAGUAAUAACUUUAUUUCCC	743	6788-6808
AV03971.um	CGAAAUAAAGUUAUUACUCUA	252	UAGAGUAAUAACUUUAUUUCG	744	6789-6809
AV03972.um	GAUAAAGUUAUUACUCUGAUA	253	UAUCAGAGUAAUAACUUUAUC	745	6792-6812
AV03973.um	GAAGUUAUUACUCUGAUUAAA	254	UUUAAUCAGAGUAAUAACUUC	746	6795-6815
AV03728-19-1.um	CUCCUCCGCUGUCCUCUCA	255	UGAGAGGACAGCGGAGGAG	747	90-108
AV03729-19-1.um	GAGUUCGAAGUGAUGGAAA	256	UUUCCAUCACUUCGAACUC	748	169-187
AV03730-19-1.um	AGUUCGAAGUGAUGGAAGA	257	UCUCCAUCACUUCGAACU	749	170-188
AV03731-19-1.um	GUUCGAAGUGAUGGAAGAA	258	UUCUCCAUCACUUCGAAC	750	171-189
AV03732-19-1.um	UUCGAAGUGAUGGAAGAU	259	UAUCUCCAUCACUUCGAA	751	172-190
AV03733-19-1.um	UCGAAGUGAUGGAAGAUA	260	UGAUCUCCAUCACUUCGA	752	173-191

AV03734-19-1.um	CGAAGUGAUGGAAGAUCAA	261	UUGAUCUUCCAUCACUUCG	753	174-192
AV03735-19-1.um	GCUACACCAUGCACCAAGA	262	UCUUGGUGCAUGGUGUAGC	754	233-251
AV03736-19-1.um	CACGGACGCUGGCCUGAAA	263	UUUCAGGCCAGCGUCCGUG	755	264-282
AV03737-19-1.um	CCCCCAGCCUGGAAGACGA	264	UCGUCUUCCAGGCUGGGGG	756	395-413
AV03738-19-1.um	AGCUGCUGGUCACGUGACA	265	UGUCACGUGACCAGCAGCU	757	414-432
AV03739-19-1.um	AAGCUCGCAUGGUCAGUAA	266	UUACUGACCAUGCGAGCUU	758	1499-1517
AV03740-19-1.um	AGCUCGCAUGGUCAGUAAA	267	UUUACUGACCAUGCGAGCU	759	1500-1518
AV03741-19-1.um	CUCGCAUGGUCAGUAAAAA	268	UUUUUACUGACCAUGCGAG	760	1502-1520
AV03742-19-1.um	CGCAUGGUCAGUAAAAGCA	269	UGCUIUUUACUGACCAUGCG	761	1504-1522
AV03743-19-1.um	GCAUGGUCAGUAAAAGCAA	270	UUGCUIUUUACUGACCAUGC	762	1505-1523
AV03744-19-1.um	CAUGGUCAGUAAAAGCAAA	271	UUUGCUIUUUACUGACCAUG	763	1506-1524
AV03745-19-1.um	AUGGUCAGUAAAAGCAAAA	272	UUUUGCUIUUUACUGACCAU	764	1507-1525
AV03746-19-1.um	UGGUCAGUAAAAGCAAAGA	273	UCUUUGCUIUUUACUGACCA	765	1508-1526
AV03747-19-1.um	GGUCAGUAAAAGCAAAGAA	274	UUCUUUGCUIUUUACUGACC	766	1509-1527
AV03748-19-1.um	GUCAGUAAAAGCAAAGACA	275	UGUCUUUGCUIUUUACUGAC	767	1510-1528

AV03749-19-1.um	ACUGGAAGCGAUGACAAAA	276	UUUUGUCAUCGCUUCCAGU	768	1531-1549
AV03750-19-1.um	CUGGAAGCGAUGACAAAAA	277	UUUUUGUCAUCGCUUCCAG	769	1532-1550
AV03751-19-1.um	GAAGCGAUGACAAAAAAGA	278	UCUUUUUUGUCAUCGCUUC	770	1535-1553
AV03752-19-1.um	AAGCGAUGACAAAAAAGCA	279	UGCUUUUUUGUCAUCGCUU	771	1536-1554
AV03753-19-1.um	GCGAUGACAAAAAAGCCAA	280	UUGGCUUUUUUGUCAUCGC	772	1538-1556
AV03754-19-1.um	CGAUGACAAAAAAGCCAAA	281	UUUGGCUUUUUUGUCAUCG	773	1539-1557
AV03755-19-1.um	CAAGGGGGCUGAUGGUAAA	282	UUUACCAUCAGCCCCCUUG	774	1752-1770
AV03756-19-1.um	GGCUGAUGGUAAAACGAAA	283	UUUCGUUUUACCAUCAGCC	775	1758-1776
AV03757-19-1.um	GCUGAUGGUAAAACGAAGA	284	UCUUCGUUUUACCAUCAGC	776	1759-1777
AV03758-19-1.um	UGAUGGUAAAACGAAGAU	285	UAUCUUCGUUUUACCAUCA	777	1761-1779
AV03759-19-1.um	GAUGGUAAAACGAAGAUCA	286	UGAUCUUCGUUUUACCAUC	778	1762-1780
AV03760-19-1.um	AUGGUAAAACGAAGAUCA	287	UCGAUCUUCGUUUUACCAU	779	1763-1781
AV03761-19-1.um	CCACCAGGAUUCCAGCAAA	288	UUUGCUGGAAUCCUGGUGG	780	1829-1847
AV03762-19-1.um	AGGAUUCCAGCAAAAACCA	289	UGGUUUUUGCUGGAAUCCU	781	1834-1852
AV03763-19-1.um	CCACCCAGCUCUGGUGAAA	290	UUUCACCAGAGCUGGGUGG	782	1870-1888

AV03764-19-1.um	UGGUGAACCUCCAAAAUCA	291	UGAUUUUGGAGGUUCACCA	783	1881-1899
AV03765-19-1.um	GGUGAACCUCCAAAAUCAA	292	UUGAUUUUGGAGGUUCACC	784	1882-1900
AV03766-19-1.um	CCUCCAAAAUCAGGGGAUA	293	UAUCCCCUGAUUUUGGAGG	785	1888-1906
AV03767-19-1.um	CGGCUCCACUGAGAACCUA	294	UAGGUUCUCAGUGGAGCCG	786	2106-2124
AV03768-19-1.um	UGUGCAAUAGUCUACAAA	295	UUUGUAGACUAUUUGCACA	787	2241-2259
AV03769-19-1.um	GUGCAAUAGUCUACAAAA	296	UUUUGUAGACUAUUUGCAC	788	2242-2260
AV03770-19-1.um	UGCAAUAGUCUACAAACA	297	UGUUUGUAGACUAUUUGCA	789	2243-2261
AV03771-19-1.um	GCAAUAGUCUACAAACCA	298	UGGUUUGUAGACUAUUUGC	790	2244-2262
AV03772-19-1.um	CAAUAGUCUACAAACCAA	299	UUGGUUUGUAGACUAUUUG	791	2245-2263
AV03773-19-1.um	AUAGUCUACAAACCAGUUA	300	U AACUGGUUUGUAGACUAU	792	2248-2266
AV03774-19-1.um	UAGUCUACAAACCAGUUGA	301	U CAACUGGUUUGUAGACUA	793	2249-2267
AV03775-19-1.um	AGUCUACAAACCAGUUGAA	302	UUCAACUGGUUUGUAGACU	794	2250-2268
AV03776-19-1.um	ACAAACCAGUUGACCUGAA	303	UUCAGGUCAACUGGUUUGU	795	2255-2273
AV03777-19-1.um	AAGGUGACCUCCAAGUGUA	304	UACACUUGGAGGUCACCUU	796	2275-2293
AV03778-19-1.um	ACCUCCAAGUGUGGCUCAA	305	UUGAGCCACACUUGGAGGU	797	2281-2299

AV03779-19-1.um	CUCCAAGUGUGGCUCAUUA	306	UAAUGAGCCACACUUGGAG	798	2283-2301
AV03780-19-1.um	CCAAGUGUGGCUCAUUAGA	307	UCUAAUGAGCCACACUUGG	799	2285-2303
AV03781-19-1.um	GUGGCUCAUUAGGCAACAA	308	UUGUUGCCUAAUGAGCCAC	800	2291-2309
AV03782-19-1.um	GGCUCAUUAGGCAACAUCA	309	UGAUGUUGCCUAAUGAGCC	801	2293-2311
AV03783-19-1.um	CUCAUUAGGCAACAUCCAA	310	UUGGAUGUUGCCUAAUGAG	802	2295-2313
AV03784-19-1.um	UCAUUAGGCAACAUCCAUA	311	UAUGGAUGUUGCCUAAUGA	803	2296-2314
AV03785-19-1.um	AUUAGGCAACAUCCAUCAA	312	UUGAUGGAUGUUGCCUAAU	804	2298-2316
AV03786-19-1.um	UAGGCAACAUCCAUCAUAA	313	UUAUGAUGGAUGUUGCCUA	805	2300-2318
AV03787-19-1.um	AGGCAACAUCCAUCAUAAA	314	UUUAUGAUGGAUGUUGCCU	806	2301-2319
AV03788-19-1.um	GCAACAUCCAUCAUAAACA	315	UGUUUAUGAUGGAUGUUGC	807	2303-2321
AV03789-19-1.um	AACAUCCAUCAUAAACCAA	316	UUGGUUUUAUGAUGGAUGUU	808	2305-2323
AV03790-19-1.um	CAUCCAUCAUAAACCAGGA	317	UCCUGGUUUUAUGAUGGAUG	809	2307-2325
AV03791-19-1.um	AGGUGGAAGUAAAAUCUGA	318	UCAGAUUUUACUUCCACCU	810	2333-2351
AV03792-19-1.um	GGUGGAAGUAAAAUCUGAA	319	UUCAGAUUUUACUUCCACC	811	2334-2352
AV03793-19-1.um	GUGGAAGUAAAAUCUGAGA	320	UCUCAGAUUUUACUUCCAC	812	2335-2353

AV03794-19-1.um	UGGAAGUAAAAUCUGAGAA	321	UUCUCAGAUUUUACUCCA	813	2336-2354
AV03795-19-1.um	GGAAGUAAAAUCUGAGAAA	322	UUUCUCAGAUUUUACUCC	814	2337-2355
AV03796-19-1.um	GAAGUAAAAUCUGAGAAGA	323	UCUUCUCAGAUUUUACUUC	815	2338-2356
AV03797-19-1.um	AGUAAAAUCUGAGAAGCUA	324	UAGCUUCUCAGAUUUUACU	816	2340-2358
AV03798-19-1.um	GUAAAAUCUGAGAAGCUUA	325	UAAGCUUCUCAGAUUUUAC	817	2341-2359
AV03799-19-1.um	AAAAUCUGAGAAGCUUGAA	326	UUCAAGCUUCUCAGAUUUU	818	2343-2361
AV03800-19-1.um	UGAGAAGCUUGACUUCAAA	327	UUUGAAGUCAAGCUUCUCA	819	2349-2367
AV03801-19-1.um	GAGAAGCUUGACUUCAAGA	328	UCUUGAAGUCAAGCUUCUC	820	2350-2368
AV03802-19-1.um	AAGCUUGACUUCAAGGACA	329	UGUCCUUGAAGUCAAGCUU	821	2353-2371
AV03803-19-1.um	AGCUUGACUUCAAGGACAA	330	UUGUCCUUGAAGUCAAGCU	822	2354-2372
AV03804-19-1.um	AGGACAGAGUCCAGUCGAA	331	UUCGACUGGACUCUGUCCU	823	2366-2384
AV03805-19-1.um	AGAGUCCAGUCGAAGAUUA	332	UAAUCUUCGACUGGACUCU	824	2371-2389
AV03806-19-1.um	GGCGGAGGAAAUAAAAAGA	333	UCUUUUUAUUUCCUCCGCC	825	2419-2437
AV03807-19-1.um	CGGAGGAAAUAAAAAGAUUA	334	UAUCUUUUUAUUUCCUCCG	826	2421-2439
AV03808-19-1.um	AUAAAAAGAUUGAAACCCA	335	UGGGUUUCAAUUUUUUAU	827	2429-2447

AV03809-19-1.um	AAAGAUUGAAACCCACAAA	336	UUUGUGGGUUUCAUCUUU	828	2433-2451
AV03810-19-1.um	GAGAUCGUGUACAAGUCGA	337	UCGACUUGUACACGAUCUC	829	2497-2515
AV03811-19-1.um	AUCUCAGCAAUGUCUCCUA	338	UAGGAGACAUUGCUGAGAU	830	2546-2564
AV03812-19-1.um	CCGGCAGCAUCGACAUGGA	339	UCCAUGUCGAUGCUGCCGG	831	2567-2585
AV03813-19-1.um	GCAUCGACAUGGUAGACUA	340	UAGUCUACCAUGUCGAUGC	832	2573-2591
AV03814-19-1.um	CACGCUAGCUGACGAGGUA	341	UACCUCGUCAGCUAGCGUG	833	2604-2622
AV03815-19-1.um	CAAGCAGGGUUUGUGAUCA	342	UGAUCACAAACCCUGCUUG	834	2637-2655
AV03816-19-1.um	AAGCAGGGUUUGUGAUCAA	343	UUGAUCACAAACCCUGCUU	835	2638-2656
AV03817-19-1.um	GAGAGAGUGUGGAAAAAAA	344	UUUUUUUCCACACUCUCUC	836	2695-2713
AV03818-19-1.um	AAAAAAGAAUAAUGACCCA	345	UGGGUCAUUAUUCUUUUUU	837	2710-2728
AV03819-19-1.um	CCUCGCAGUUCGGUUAUA	346	UAUUAACCGAACUGCGAGG	838	2755-2773
AV03820-19-1.um	AUUGGUUAAUCACUUAACA	347	UGUUAAGUGAUUAACCAAU	839	2771-2789
AV03821-19-1.um	UUGGUUAAUCACUUAACCA	348	UGGUUAAGUGAUUAACCAA	840	2772-2790
AV03822-19-1.um	GGUUAUUCACUUAACCUGA	349	UCAGGUUAAGUGAUUAACC	841	2774-2792
AV03823-19-1.um	AUCACUUAACCUGCUUUUA	350	UAAAAGCAGGUUAAGUGAU	842	2779-2797

AV03824-19-1.um	UCACUUAACCUGCUUUUGA	351	UCAAAAGCAGGUUAAGUGA	843	2780-2798
AV03825-19-1.um	CACUUAACCUGCUUUUGUA	352	UACAAAAGCAGGUUAAGUG	844	2781-2799
AV03826-19-1.um	ACUUAACCUGCUUUUGUCA	353	UGACAAAAGCAGGUUAAGU	845	2782-2800
AV03827-19-1.um	CUCGGGACUUCAAAAUCA	354	UUGAUUUUGAAGUCCCGAG	846	2812-2830
AV03828-19-1.um	CGGGACUUCAAAAUCAGUA	355	UACUGAUUUUGAAGUCCCG	847	2814-2832
AV03829-19-1.um	ACUUCAAAAUCAGUGAUGA	356	UCAUCACUGAUUUUGAAGU	848	2818-2836
AV03830-19-1.um	CUUCAAAAUCAGUGAUGGA	357	UCCAUCACUGAUUUUGAAG	849	2819-2837
AV03831-19-1.um	AGAGCAAUUUCAUCUUUA	358	UAAAGAUGAAAUUUGCUCU	850	2842-2860
AV03832-19-1.um	GAGCAAUUUCAUCUUUCA	359	UGAAAGAUGAAAUUUGCUC	851	2843-2861
AV03833-19-1.um	AGCAAUUUCAUCUUUCCA	360	UGGAAAGAUGAAAUUUGCU	852	2844-2862
AV03834-19-1.um	GCAAUUUCAUCUUUCCAA	361	UUGGAAAGAUGAAAUUUGC	853	2845-2863
AV03835-19-1.um	CAAUUUCAUCUUUCCAAA	362	UUUGGAAAGAUGAAAUUUG	854	2846-2864
AV03836-19-1.um	AAAUUCAUCUUUCCAAAA	363	UUUUGGAAAGAUGAAAUUU	855	2847-2865
AV03837-19-1.um	AAUUUCAUCUUUCCAAUA	364	UAUUUGGAAAGAUGAAAUU	856	2848-2866
AV03838-19-1.um	AUUUCAUCUUUCCAAAUUA	365	UAAUUUGGAAAGAUGAAAU	857	2849-2867

AV03839-19-1.um	UUUCAUCUUUCCAAAUUGA	366	UCAAUUUGGAAAGAUGAAA	858	2850-2868
AV03840-19-1.um	UCAUCUUUCCAAAUUGAUA	367	UAUCAAUUUGGAAAGAUGA	859	2852-2870
AV03841-19-1.um	GUGGGCUAGUAAUAAAAUA	368	UAUUUUAAUACUAGCCCAC	860	2872-2890
AV03842-19-1.um	GGCUAGUAAUAAAAUAUUA	369	UAAUAUUUUAAUACUAGCC	861	2875-2893
AV03843-19-1.um	AGGCAAUCCUUUUGAUUA	370	UAAUCAAAAGGAAUUGCCU	862	2937-2955
AV03844-19-1.um	GCAAUCCUUUUGAUUCUA	371	UAGAAUCAAAAGGAAUUGC	863	2939-2957
AV03845-19-1.um	CAGCAACAAAGGAUUUGAA	372	UUCAAAUCCUUUGUUGCUG	864	3084-3102
AV03846-19-1.um	GCAACAAAGGAUUUGAAAA	373	UUUUCAAAUCCUUUGUUGC	865	3086-3104
AV03847-19-1.um	CAACAAAGGAUUUGAAACA	374	UGUUUCAAAUCCUUUGUUG	866	3087-3105
AV03848-19-1.um	AACAAAGGAUUUGAAACUA	375	UAGUUUCAAAUCCUUUGUU	867	3088-3106
AV03849-19-1.um	ACAAAGGAUUUGAAACUUA	376	UAAGUUUCAAAUCCUUUGU	868	3089-3107
AV03850-19-1.um	CAAAGGAUUUGAAACUUGA	377	UCAAGUUUCAAAUCCUUUG	869	3090-3108
AV03851-19-1.um	AAAGGAUUUGAAACUUGGA	378	UCCAAGUUUCAAAUCCUUU	870	3091-3109
AV03852-19-1.um	AAGGAUUUGAAACUUGGUA	379	UACCAAGUUUCAAAUCCUU	871	3092-3110
AV03853-19-1.um	GGAUUUGAAACUUGGUGUA	380	UACACCAAGUUUCAAAUCC	872	3094-3112

AV03854-19-1.um	GAUUUGAAACUUGGUGUGA	381	UCACACCAAGUUUCAAUUC	873	3095-3113
AV03855-19-1.um	UUUGAAACUUGGUGUGUUA	382	UAACACACCAAGUUUCAA	874	3097-3115
AV03856-19-1.um	UUGAAACUUGGUGUGUUA	383	UGAACACACCAAGUUUCAA	875	3098-3116
AV03857-19-1.um	CCAUGAUUUUGGCCACUUA	384	UAAGUGGCCAAAAUCAUGG	876	3611-3629
AV03858-19-1.um	UGGCCACUUUGCAGACCUA	385	UAGGUCUGCAAAGUGGCCA	877	3620-3638
AV03859-19-1.um	UUGCAGACCUGGGACUUA	386	UAAAGUCCCAGGUCUGCAA	878	3628-3646
AV03860-19-1.um	CCUGGGACUUUAGGGCUAA	387	UUAGCCCUAAAGUCCCAGG	879	3635-3653
AV03861-19-1.um	CUUUAGGGCUAACCAGUUA	388	UACUGGUUAGCCCUAAAG	880	3642-3660
AV03862-19-1.um	GCUAACCAGUUCUCUUUGA	389	UCAAAGAGAACUGGUUAGC	881	3649-3667
AV03863-19-1.um	CUAACCAGUUCUCUUUGUA	390	UACAAAGAGAACUGGUUAG	882	3650-3668
AV03864-19-1.um	AACCAGUUCUCUUUGUAAA	391	UUUACAAAGAGAACUGGUU	883	3652-3670
AV03865-19-1.um	ACCAGUUCUCUUUGUAAGA	392	UCUUACAAAGAGAACUGGU	884	3653-3671
AV03866-19-1.um	CCAGUUCUCUUUGUAAGGA	393	UCCUUACAAAGAGAACUGG	885	3654-3672
AV03867-19-1.um	CAGUUCUCUUUGUAAGGAA	394	UUCCUUACAAAGAGAACUG	886	3655-3673
AV03868-19-1.um	AGUUCUCUUUGUAAGGACA	395	UGUCCUUACAAAGAGAACU	887	3656-3674

AV03869-19-1.um	UUCUCUUUGUAAGGACUUA	396	UAAGUCCUUACAAAGAGAA	888	3658-3676
AV03870-19-1.um	CUCUUUGUAAGGACUUGUA	397	UACAAGUCCUUACAAAGAG	889	3660-3678
AV03871-19-1.um	AUCACUGCCUAUACCCCUA	398	UAGGGGUUAUAGGCAGUGAU	890	3836-3854
AV03872-19-1.um	ACUCCAUACUGAGGGUGAA	399	UUCACCCUCAGUAUGGAGU	891	3935-3953
AV03873-19-1.um	AUACUGAGGGUGAAAUUAA	400	UUAAUUUCACCCUCAGUAU	892	3940-3958
AV03874-19-1.um	UACUGAGGGUGAAAUUAAA	401	UUUAAUUUCACCCUCAGUA	893	3941-3959
AV03875-19-1.um	ACUGAGGGUGAAAUUAAGA	402	UCUUAUUUCACCCUCAGU	894	3942-3960
AV03876-19-1.um	CUGAGGGUGAAAUUAAGGA	403	UCCUUAUUUCACCCUCAG	895	3943-3961
AV03877-19-1.um	GGGUGAAAUUAAGGGAAGA	404	UCUUCCCUUAAUUUCACCC	896	3947-3965
AV03878-19-1.um	ACCCAGCCUCUCACUCUA	405	UAGAGUGAGAGGCUGGGGU	897	3989-4007
AV03879-19-1.um	GCCUCUCACUCUCAGUUCA	406	UGAACUGAGAGUGAGAGGC	898	3995-4013
AV03880-19-1.um	CUCUCACUCUCAGUCCAA	407	UUGGAACUGAGAGUGAGAG	899	3997-4015
AV03881-19-1.um	ACUCUCAGUUCCACUCAUA	408	UAUGAGUGGAACUGAGAGU	900	4002-4020
AV03882-19-1.um	CUCUCAGUUCCACUCAUCA	409	UGAUGAGUGGAACUGAGAG	901	4003-4021
AV03883-19-1.um	CAGUUCCACUCAUCCAACA	410	UGUUGGAUGAGUGGAACUG	902	4007-4025

AV03884-19-1.um	AGGUGUUUCUGCCUUGUUA	411	UAACAAGGCAGAAACACCU	903	4120-4138
AV03885-19-1.um	GUUUCUGCCUUGUUGACAA	412	UUGUCAACAAGGCAGAAAC	904	4124-4142
AV03886-19-1.um	UUUCUGCCUUGUUGACAU	413	UAUGUCAACAAGGCAGAAA	905	4125-4143
AV03887-19-1.um	UGGAAGCCAUGCUGUCUGA	414	UCAGACAGCAUGGCUUCCA	906	4426-4444
AV03888-19-1.um	AAGCCAUGCUGUCUGUUCA	415	UGAACAGACAGCAUGGCUU	907	4429-4447
AV03889-19-1.um	GCCAUGCUGUCUGUUCUGA	416	UCAGAACAGACAGCAUGGC	908	4431-4449
AV03890-19-1.um	CAUGCUGUCUGUUCUGCUA	417	UAGCAGAACAGACAGCAUG	909	4433-4451
AV03891-19-1.um	UGGAGCAGCUGAACAUUA	418	UAUAUGUUCAGCUGCUCCA	910	4450-4468
AV03892-19-1.um	GGAGCAGCUGAACAUUAA	419	UUAUAUGUUCAGCUGCUCC	911	4451-4469
AV03893-19-1.um	GCAGCUGAACAUUACAUA	420	UAUGUAUAUGUUCAGCUGC	912	4454-4472
AV03894-19-1.um	AGCUGAACAUUACAUAGA	421	UCUAUGUAUAUGUUCAGCU	913	4456-4474
AV03895-19-1.um	GCUGAACAUUACAUAGAA	422	UUCUAUGUAUAUGUUCAGC	914	4457-4475
AV03896-19-1.um	CUGAACAUUACAUAGAU	423	UAUCUAUGUAUAUGUUCAG	915	4458-4476
AV03897-19-1.um	UGAACAUUACAUAGAUGA	424	UCAUCUAUGUAUAUGUUCA	916	4459-4477
AV03898-19-1.um	GAACAUUACAUAGAUGUA	425	UACAUCUAUGUAUAUGUUC	917	4460-4478

AV03899-19-1.um	AACAUAUACAUAGAUGUUA	426	UAACAUCUAUGUAUAUGUU	918	4461-4479
AV03900-19-1.um	ACAUAUACAUAGAUGUUGA	427	UCAACAUCUAUGUAUAUGU	919	4462-4480
AV03901-19-1.um	CAUAUACAUAGAUGUUGCA	428	UGCAACAUCUAUGUAUAUG	920	4463-4481
AV03902-19-1.um	AGUUGUAGUUGGAUUUGUA	429	UACAAAUCCAACUACAACU	921	4508-4526
AV03903-19-1.um	GUUGUAGUUGGAUUUGUCA	430	UGACAAAUCCAACUACAAC	922	4509-4527
AV03904-19-1.um	UUGUAGUUGGAUUUGUCUA	431	UAGACAAAUCCAACUACAA	923	4510-4528
AV03905-19-1.um	UGUAGUUGGAUUUGUCUGA	432	UCAGACAAAUCCAACUACA	924	4511-4529
AV03906-19-1.um	GUAGUUGGAUUUGUCUGUA	433	UACAGACAAAUCCAACUAC	925	4512-4530
AV03907-19-1.um	UAGUUGGAUUUGUCUGUUA	434	UACAGACAAAUCCAACUA	926	4513-4531
AV03908-19-1.um	AGUUGGAUUUGUCUGUUUA	435	UAAACAGACAAAUCCAACU	927	4514-4532
AV03909-19-1.um	GUUGGAUUUGUCUGUUUAA	436	UUAAACAGACAAAUCCAAC	928	4515-4533
AV03910-19-1.um	UUGGAUUUGUCUGUUUAUA	437	UAUAAACAGACAAAUCCAA	929	4516-4534
AV03911-19-1.um	UGGAUUUGUCUGUUUAUGA	438	UCAUAAACAGACAAAUCCA	930	4517-4535
AV03912-19-1.um	GGAUUUGUCUGUUUAUGCA	439	UGCAUAAACAGACAAAUCC	931	4518-4536
AV03913-19-1.um	GAUUUGUCUGUUUAUGCUA	440	UAGCAUAAACAGACAAAUC	932	4519-4537

AV03914-19-1.um	AUUUGUCUGUUUAUGCUUA	441	UAAGCAUAAACAGACAAAU	933	4520-4538
AV03915-19-1.um	UUUGUCUGUUUAUGCUUGA	442	UCAAGCAUAAACAGACAAA	934	4521-4539
AV03916-19-1.um	UUGUCUGUUUAUGCUUGGA	443	UCCAAGCAUAAACAGACAA	935	4522-4540
AV03917-19-1.um	UGUCUGUUUAUGCUUGGAA	444	UCCAAGCAUAAACAGACA	936	4523-4541
AV03918-19-1.um	GUCUGUUUAUGCUUGGAUA	445	UAUCCAAGCAUAAACAGAC	937	4524-4542
AV03919-19-1.um	UCUGUUUAUGCUUGGAUUA	446	UAAUCCAAGCAUAAACAGA	938	4525-4543
AV03920-19-1.um	CUGUUUAUGCUUGGAUUCA	447	UGAAUCCAAGCAUAAACAG	939	4526-4544
AV03921-19-1.um	UGUUUAUGCUUGGAUUCAA	448	UUGAAUCCAAGCAUAAACA	940	4527-4545
AV03922-19-1.um	GUUUAUGCUUGGAUUCACA	449	UGUGAAUCCAAGCAUAAAC	941	4528-4546
AV03923-19-1.um	AUGCUUGGAUUCACCAGAA	450	UUCUGGUGAAUCCAAGCAU	942	4532-4550
AV03924-19-1.um	GAUUCACCAGAGUGACUAA	451	UUAGUCACUCUGGUGAAUC	943	4539-4557
AV03925-19-1.um	AUUCACCAGAGUGACUAUA	452	UAUAGUCACUCUGGUGAAU	944	4540-4558
AV03926-19-1.um	UUCACCAGAGUGACUAUGA	453	UCAUAGUCACUCUGGUGAA	945	4541-4559
AV03927-19-1.um	AAAAAAAAGGACGCAUGUA	454	UACAUGCGUCCUUUUUUUU	946	4580-4598
AV03928-19-1.um	AAAAAAAAGGACGCAUGUAA	455	UUACAUGCGUCCUUUUUUUU	947	4581-4599

AV03929-19-1.um	AAAAAAGGACGCAUGUAUA	456	UAUACAUGCGUCCUUUUUU	948	4582-4600
AV03930-19-1.um	AAAAAGGACGCAUGUAUCA	457	UGAUACAUGCGUCCUUUUU	949	4583-4601
AV03931-19-1.um	AAAGGACGCAUGUAUCUUA	458	UAAGAUACAUGCGUCCUUU	950	4585-4603
AV03932-19-1.um	AAGGACGCAUGUAUCUUGA	459	UCAAGAUACAUGCGUCCUU	951	4586-4604
AV03933-19-1.um	AGGACGCAUGUAUCUUGAA	460	UUCAAGAUACAUGCGUCCU	952	4587-4605
AV03934-19-1.um	GGACGCAUGUAUCUUGAAA	461	UUUCAAGAUACAUGCGUCC	953	4588-4606
AV03935-19-1.um	ACGCAUGUAUCUUGAAAUA	462	UAUUUCAAGAUACAUGCGU	954	4590-4608
AV03936-19-1.um	AACUCCUGCAUCACAAGAA	463	UUCUUGUGAUGCAGGAGUU	955	4963-4981
AV03937-19-1.um	CUCACUUUAUCAAUAGUUA	464	UAACUAUUGAUAAAGUGAG	956	5943-5961
AV03938-19-1.um	UCACUUUAUCAAUAGUUCA	465	UGAACUAUUGAUAAAGUGA	957	5944-5962
AV03939-19-1.um	CACUUUAUCAAUAGUUGCA	466	UGGAACUAUUGAUAAAGUG	958	5945-5963
AV03940-19-1.um	ACUUUAUCAAUAGUUGCAA	467	UUGGAACUAUUGAUAAAGU	959	5946-5964
AV03941-19-1.um	UUUAUCAAUAGUUGCAUUA	468	UAAUGGAACUAUUGAUAAA	960	5948-5966
AV03942-19-1.um	UAUCAAUAGUUGCAUUUAA	469	UUAAAUGGAACUAUUGAUA	961	5950-5968
AV03943-19-1.um	AUCAAUAGUUGCAUUUAAA	470	UUUAAAUGGAACUAUUGAU	962	5951-5969

AV03944-19-1.um	AUAGUCCAUUUAAAUUGA	471	UCAAUUUAAAUGGAACUUAU	963	5955-5973
AV03945-19-1.um	UAGUCCAUUUAAAUUGAA	472	UUCAAUUUAAAUGGAACUA	964	5956-5974
AV03946-19-1.um	AGUCCAUUUAAAUUGACA	473	UGUCAAUUUAAAUGGAACU	965	5957-5975
AV03947-19-1.um	UCCAUUUAAAUUGACUUCA	474	UGAAGUCAAUUUAAAUGGA	966	5960-5978
AV03948-19-1.um	CUUGCAAGUCCCAUGAUUA	475	UAAUCAUGGGACUUGCAAG	967	6637-6655
AV03949-19-1.um	UGCAAGUCCCAUGAUUUUCA	476	UGAAAUCAUGGGACUUGCA	968	6639-6657
AV03950-19-1.um	GCAAGUCCCAUGAUUUUCUA	477	UAGAAAUCAUGGGACUUGC	969	6640-6658
AV03951-19-1.um	CAAGUCCCAUGAUUUUCUUA	478	UAAGAAAUCAUGGGACUUG	970	6641-6659
AV03952-19-1.um	AAAUCAUCUAGCUUAGCA	479	UGCUAAGCUAAGAUGAUUU	971	6690-6708
AV03953-19-1.um	AUCAUCUAGCUUAGCUUA	480	UAAGCUAAGCUAAGAUGAU	972	6692-6710
AV03954-19-1.um	UCUAUAUAGUGUAUUGUGA	481	UCACAAUACACUAUAUAGA	973	6724-6742
AV03955-19-1.um	AUGAUUUACACUGACUGUA	482	UACAGUCAGUGUAAAUCAU	974	6753-6771
AV03956-19-1.um	GAUUUACACUGACUGUUGA	483	UCAACAGUCAGUGUAAAUC	975	6755-6773
AV03957-19-1.um	UACACUGACUGUUGCUGUA	484	UACAGCAACAGUCAGUGUA	976	6759-6777
AV03958-19-1.um	ACACUGACUGUUGCUGUAA	485	UUACAGCAACAGUCAGUGU	977	6760-6778

AV03959-19-1.um	CACUGACUGUUGCUGUAAA	486	UUUACAGCAACAGUCAGUG	978	6761-6779
AV03960-19-1.um	ACUGACUGUUGCUGUAAAA	487	UUUUACAGCAACAGUCAGU	979	6762-6780
AV03961-19-1.um	UGACUGUUGCUGUAAAAGA	488	UCUUUUACAGCAACAGUCA	980	6764-6782
AV03962-19-1.um	GACUGUUGCUGUAAAAGUA	489	UACUUUUACAGCAACAGUC	981	6765-6783
AV03963-19-1.um	ACUGUUGCUGUAAAAGUGA	490	UCACUUUUACAGCAACAGU	982	6766-6784
AV03964-19-1.um	CUGUUGCUGUAAAAGUGAA	491	UUCACUUUUACAGCAACAG	983	6767-6785
AV03965-19-1.um	UGUUGCUGUAAAAGUGAAA	492	UUUCACUUUUACAGCAACA	984	6768-6786
AV03966-19-1.um	GUUGCUGUAAAAGUGAAUA	493	UAUUCACUUUUACAGCAAC	985	6769-6787
AV03967-19-1.um	UGUAAAAGUGAAUUUGGAA	494	UUCCAAUUCACUUUUACA	986	6774-6792
AV03968-19-1.um	GUAAAAGUGAAUUUGGAAA	495	UUUCCAAUUCACUUUUAC	987	6775-6793
AV03969-19-1.um	UGAAUUUGGAAUAAAGUA	496	UACUUUAUUUCCAAUUCA	988	6782-6800
AV03970-19-1.um	GAAAUAAAGUUAUUACUCA	497	UGAGUAAUAACUUUAUUUC	989	6790-6808
AV03971-19-1.um	AAAUAAAGUUAUUACUCUA	498	UAGAGUAAUAACUUUAUUU	990	6791-6809
AV03972-19-1.um	UAAAGUUAUUACUCUGAUA	499	UAUCAGAGUAAUAACUUUA	991	6794-6812
AV03973-19-1.um	AGUUAUUACUCUGAUUAAA	500	UUUAAUCAGAGUAAUAACU	992	6797-6815

AD03098-1.um	CAGGUGGAAGUAAAAUCUGA	1839	UCAGAUUUUACUUCCACCUGGG	1843	2331-2351
AD03099.um	GUGGAAGUAAAAUCUGAGAAA	1840	UUUCUCAGAUUUUACUUCCACCU	1844	2335-2355
AD03100.um	CGCAUGGUCAGUAAAAGCAAA	1841	UUUGCUUUUACUGACCAUGCGAG	1845	1504-1524
AD02153-1.um	UAAGUAAAAUCUGAGAAGCUA	1842	UAGCUUCUCAGAUUUUACUUA	1846	2338-2358
AV07298.um	GCGCUGGGACGUACGGGUUGA	2137	UCAACCCGUACGUCCCAGCGC	2427	191-211
AV07299.um	CGACGUACGGGUUGGGGGACA	2138	UGUCCCCCAACCCGUACGUCG	2428	197-217
AV07300.um	CACGUACGGGUUGGGGGACAA	2139	UUGUCCCCCAACCCGUACGUG	2284	198-218
AV07301.um	GGAGGCUGACCUUCCAGAGCA	2140	UGCUCUGGAAGGUCAGCCUCC	2285	1416-1436
AV07302.um	CAGGCUGACCUUCCAGAGCCA	2141	UGGCUCUGGAAGGUCAGCCUG	2286	1417-1437
AV07303.um	GAGCCUGCUGCUGCUCCGCGA	2142	UCGCGGAGCAGCAGCAGGCUC	2287	1447-1467
AV07304.um	CGUCAGUAAAAGCAAAGACGA	2143	UCGUCUUUGCUUUUACUGACG	2288	1509-1529
AV07305.um	CUCAGUAAAAGCAAAGACGGA	2144	UCCGUCUUUGCUUUUACUGAG	2289	1510-1530
AV07306.um	GAGUAAAAGCAAAGACGGGAA	2145	UUCCCGUCUUUGCUUUUACUC	2290	1512-1532
AV07307.um	GCUGGAAGCGAUGACAAAAAA	2146	UUUUUUUGUCAUCGCUUCCAGC	2291	1531-1551
AV07308.um	GUGGAAGCGAUGACAAAAAAA	2147	UUUUUUUGUCAUCGCUUCCAC	2292	1532-1552

AV07309.um	CAAGCGAUGACAAAAAAGCCA	2148	UGGCUUUUUUGUCAUCGCUUG	2293	1535-1555
AV07310.um	CCGAUGACAAAAAAGCCAAGA	2149	UCUUGGCUUUUUUGUCAUCGG	2294	1538-1558
AV07311.um	GCCUUGAAAAAUAGGCCUUGA	2150	UCAAGGCCUAUUUUUCAAGGC	2295	1582-1602
AV07312.um	GCUUGAAAAAUAGGCCUUGCA	2151	UGCAAGGCCUAUUUUUCAAGC	2296	1583-1603
AV07313.um	GUUGAAAAAUAGGCCUUGCCA	2152	UGGCAAGGCCUAUUUUUCAAC	2297	1584-1604
AV07314.um	GAGGCCUUGCCUAGCCCCAA	2153	UUGGGGCUAAGGCAAGGCCUC	2298	1593-1613
AV07315.um	CCAAAUAGUCUACAAACCAGA	2154	UCUGGUUUGUAGACUAUUUGG	2299	2244-2264
AV07316.um	GAAAUAGUCUACAAACCAGUA	2155	UACUGGUUUGUAGACUAUUUC	2300	2245-2265
AV07317.um	GAGUCUACAAACCAGUUGACA	2156	UGUCAACUGGUUUGUAGACUC	2301	2249-2269
AV07318.um	CUCUACAAACCAGUUGACCUA	2157	UAGGUCAACUGGUUUGUAGAG	2302	2251-2271
AV07319.um	GACAAACCAGUUGACCUGAGA	2158	UCUCAGGUCAACUGGUUUGUC	2303	2254-2274
AV07320.um	GAACCAGUUGACCUGAGCAAA	2159	UUUGCUCAGGUCAACUGGUUC	2304	2257-2277
AV07321.um	GCCAGUUGACCUGAGCAAGGA	2160	UCCUUGCUCAGGUCAACUGGC	2305	2259-2279
AV07322.um	GCUGAGCAAGGUGACCUCCAA	2161	UUGGAGGUCACCUUGCUCAGC	2306	2268-2288
AV07323.um	GAAGGUGACCUCCAAGUGUGA	2162	UCACACUUGGAGGUCACCUUC	2307	2274-2294

AV07324.um	CACCUCCAAGUGUGGCUCAUA	2163	UAUGAGCCACACUUGGAGGUG	2308	2280-2300
AV07325.um	GCAAGUGUGGCUCAUUAGGCA	2164	UGCCUAAUGAGCCACACUUGC	2309	2285-2305
AV07326.um	GAGUGUGGCUCAUUAGGCAA	2165	UUUGCCUAAUGAGCCACACUC	2310	2287-2307
AV07327.um	GGUGUGGCUCAUUAGGCAACA	2166	UGUUGCCUAAUGAGCCACACC	2311	2288-2308
AV07328.um	GUCAUUAGGCAACAUCCAUCA	2167	UGAUGGAUGUUGCCUAAUGAC	2312	2295-2315
AV07329.um	GAUUAGGCAACAUCCAUCAUA	2168	UAUGAUGGAUGUUGCCUAAUC	2313	2297-2317
AV07330.um	GAGGCAACAUCCAUCAUAAAA	2169	UUUUAUGAUGGAUGUUGCCUC	2314	2300-2320
AV07331.um	CGCAACAUCCAUCAUAAACCA	2170	UGGUUUAUGAUGGAUGUUGCG	2315	2302-2322
AV07332.um	GAACAUCCAUCAUAAACCAGA	2171	UCUGGUUUAUGAUGGAUGUUC	2316	2304-2324
AV07333.um	GCAUCCAUCAUAAACCAGGAA	2172	UUCCUGGUUUAUGAUGGAUGC	2317	2306-2326
AV07334.um	GCCAUCAUAAACCAGGAGGUA	2173	UACCUCUGGUUUAUGAUGGC	2318	2309-2329
AV07335.um	GAACCAGGAGGUGGCCAGGUA	2174	UACCUGGCCACCUCCUGGUUC	2319	2317-2337
AV07336.um	CCCAGGUGGAAGUAAAAUCUA	2175	UAGAUUUUACUUCCACCUGGG	2320	2330-2350
AV07337.um	CGAAGUAAAAUCUGAGAAGCA	2176	UGCUUCUCAGAUUUUACUUCG	2321	2337-2357
AV07338.um	GGUAAAAUCUGAGAAGCUUGA	2177	UCAAGCUUCUCAGAUUUUACC	2322	2340-2360

AV07339.um	GAAAAUCUGAGAAGCUUGACA	2178	UGUCAAGCUUCUCAGAUUUUC	2323	2342-2362
AV07340.um	GAAAUCUGAGAAGCUUGACUA	2179	UAGUCAAGCUUCUCAGAUUUC	2324	2343-2363
AV07341.um	GAAUCUGAGAAGCUUGACUUA	2180	UAAGUCAAGCUUCUCAGAUUC	2325	2344-2364
AV07342.um	GAUCUGAGAAGCUUGACUUCA	2181	UGAAGUCAAGCUUCUCAGAUC	2326	2345-2365
AV07343.um	GUCUGAGAAGCUUGACUUCAA	2182	UUGAAGUCAAGCUUCUCAGAC	2327	2346-2366
AV07344.um	GGAGAAGCUUGACUUCAAGGA	2183	UCCUUGAAGUCAAGCUUCUCC	2328	2349-2369
AV07345.um	CAGAAGCUUGACUUCAAGGAA	2184	UCCUUGAAGUCAAGCUUCUG	2329	2350-2370
AV07346.um	GAGCUUGACUUCAAGGACAGA	2185	UCUGUCCUUGAAGUCAAGCUC	2330	2353-2373
AV07347.um	GGCUUGACUUCAAGGACAGAA	2186	UUCUGUCCUUGAAGUCAAGCC	2331	2354-2374
AV07348.um	CCUUGACUUCAAGGACAGAGA	2187	UCUCUGUCCUUGAAGUCAAGG	2332	2355-2375
AV07349.um	GUUGACUUCAAGGACAGAGUA	2188	UACUCUGUCCUUGAAGUCAAC	2333	2356-2376
AV07350.um	GUGACUUCAAGGACAGAGUCA	2189	UGACUCUGUCCUUGAAGUCAC	2334	2357-2377
AV07351.um	CACAGAGUCCAGUCGAAGAUUA	2190	UAUCUUCGACUGGACUCUGUG	2335	2368-2388
AV07352.um	GAGAGUCCAGUCGAAGAUUGA	2191	UCAAUCUUCGACUGGACUCUC	2336	2370-2390
AV07353.um	GCAGUCGAAGAUUGGGUCCCA	2192	UGGGACCCAAUCUUCGACUGC	2337	2376-2396

AV07354.um	GAGUCGAAGAUUGGGUCCCUA	2193	UAGGGACCCAAUCUUCGACUC	2338	2377-2397
AV07355.um	GGAAGAUUGGGUCCCUUGGACA	2194	UGUCCAGGGACCCAAUCUUCC	2339	2381-2401
AV07356.um	CAUUGGGUCCCUUGGACAAUAA	2195	UUAUUGUCCAGGGACCCAAUG	2340	2385-2405
AV07357.um	CGGUCCCUUGGACAAUAUCACA	2196	UGUGAUAAUUGUCCAGGGACCG	2341	2389-2409
AV07358.um	GCCCUGGACAAUAUCACCCAA	2197	UUGGGUGAUAAUUGUCCAGGGC	2342	2392-2412
AV07359.um	GCUGGACAAUAUCACCCACGA	2198	UCGUGGGUGAUAAUUGUCCAGC	2343	2394-2414
AV07360.um	GUGGACAAUAUCACCCACGUA	2199	UACGUGGGUGAUAAUUGUCCAC	2344	2395-2415
AV07361.um	GAAAAAGAAUAAUGACCCGA	2200	UCGGGUCAUUAUUCUUUUUC	2345	2709-2729
AV07362.um	GAAAAAGAAUAAUGACCCGGA	2201	UCCGGGUCAUUAUUCUUUUUC	2346	2710-2730
AV07363.um	GAAAAGAAUAAUGACCCGGCA	2202	UGCCGGGUCAUUAUUCUUUUUC	2347	2711-2731
AV07364.um	CGCCCCCGCCCUCUGCCCCCA	2203	UGGGGGCAGAGGGCGGGGGCG	2348	2728-2748
AV07365.um	GCCCCGCCCUCUGCCCCCAGA	2204	UCUGGGGGCAGAGGGCGGGGC	2349	2730-2750
AV07366.um	GUGCCCCCAGCUGCUCUCCUGA	2205	UCGAGGAGCAGCUGGGGGCAC	2350	2740-2760
AV07367.um	GCCCCAGCUGCUCUCCUCGAGA	2206	UCUGCGAGGAGCAGCUGGGGC	2351	2743-2763
AV07368.um	CCUCCUCGCAGUUCGGUAAA	2207	UUUAACCGAACUGCGAGGAGG	2352	2752-2772

AV07369.um	GUCGCAGUUCGGUUAUUGGA	2208	UCCAAUUAACCGAACUGCGAC	2353	2756-2776
AV07370.um	GCGCAGUUCGGUUAUUGGUA	2209	UACCAAUUAACCGAACUGCGC	2354	2757-2777
AV07371.um	GGCAGUUCGGUUAUUGGUUA	2210	UAACCAAUUAACCGAACUGCC	2355	2758-2778
AV07372.um	CCAGUUCGGUUAUUGGUUAA	2211	UUAACCAAUUAACCGAACUGG	2356	2759-2779
AV07373.um	GAGUUCGGUUAUUGGUUAAA	2212	UUUAACCAAUUAACCGAACUC	2357	2760-2780
AV07374.um	GGUUCGGUUAUUGGUUAAUA	2213	UAUUAACCAAUUAACCGAACC	2358	2761-2781
AV07375.um	CUUCGGUUAUUGGUUAAUCA	2214	UGAUUAACCAAUUAACCGAAG	2359	2762-2782
AV07376.um	GUCGGUUAUUGGUUAAUCAA	2215	UUGAUUAACCAAUUAACCGAC	2360	2763-2783
AV07377.um	GCGGUUAUUGGUUAAUCACA	2216	UGUGAUUAACCAAUUAACCGC	2361	2764-2784
AV07378.um	GGGUUAUUGGUUAAUCACUA	2217	UAGUGAUUAACCAAUUAACCC	2362	2765-2785
AV07379.um	CGUUAUUGGUUAAUCACUUA	2218	UAAGUGAUUAACCAAUUAACG	2363	2766-2786
AV07380.um	CUUAAUUGGUUAAUCACUUA	2219	UUAAGUGAUUAACCAAUUAAG	2364	2767-2787
AV07381.um	GUAAUUGGUUAAUCACUUAAA	2220	UUUAAGUGAUUAACCAAUUAC	2365	2768-2788
AV07382.um	GUUGGUUAAUCACUUAACCUA	2221	UAGGUUAAGUGAUUAACCAAC	2366	2771-2791
AV07383.um	GGGUUAAUCACUUAACCUGCA	2222	UGCAGGUUAAGUGAUUAACCC	2367	2773-2793

AV07384.um	CGUUAUAUCACUUAACCUGCUA	2223	UAGCAGGUUAAGUGAUUAACG	2368	2774-2794
AV07385.um	CUUAAUCACUUAACCUGCUUA	2224	UAAGCAGGUUAAGUGAUUAAG	2369	2775-2795
AV07386.um	GUAAUCACUUAACCUGCUUUA	2225	UAAAGCAGGUUAAGUGAUUAC	2370	2776-2796
AV07387.um	GACUUAACCUGCUUUUGUCA	2226	UUGACAAAAGCAGGUUAAGUC	2371	2781-2801
AV07388.um	GCUUAACCUGCUUUUGUCACA	2227	UGUGACAAAAGCAGGUUAAGC	2372	2782-2802
AV07389.um	GUUAACCUGCUUUUGUCACUA	2228	UAGUGACAAAAGCAGGUUAAC	2373	2783-2803
AV07390.um	GUAACCUGCUUUUGUCACUCA	2229	UGAGUGACAAAAGCAGGUUAC	2374	2784-2804
AV07391.um	GAACCUGCUUUUGUCACUCGA	2230	UCGAGUGACAAAAGCAGGUUC	2375	2785-2805
AV07392.um	GCCUGCUUUUGUCACUCGGCA	2231	UGCCGAGUGACAAAAGCAGGC	2376	2787-2807
AV07393.um	GUGCUUUUGUCACUCGGCUUA	2232	UAAGCCGAGUGACAAAAGCAC	2377	2789-2809
AV07394.um	GGCUUUUGUCACUCGGCUUUA	2233	UAAAGCCGAGUGACAAAAGCC	2378	2790-2810
AV07395.um	CCUUUUGUCACUCGGCUUUGA	2234	UCAAAGCCGAGUGACAAAAGG	2379	2791-2811
AV07396.um	GGUCACUCGGCUUUGGCUCGA	2235	UCGAGCCAAAGCCGAGUGACC	2380	2796-2816
AV07397.um	CUCACUCGGCUUUGGCUCGGA	2236	UCCGAGCCAAAGCCGAGUGAG	2381	2797-2817
AV07398.um	GUUUGGCUCGGGACUUCAAAA	2237	UUUUGAAGUCCCGAGCCAAAC	2382	2806-2826

AV07399.um	GGGCUCGGGACUUCAAAAUCA	2238	UGAUUUUGAAGUCCCGAGCCC	2383	2809-2829
AV07400.um	CCUCGGGACUUCAAAAUCAGA	2239	UCUGAUUUUGAAGUCCCGAGG	2384	2811-2831
AV07401.um	GGGGACUUCAAAAUCAGUGAA	2240	UUCACUGAUUUUGAAGUCCCC	2385	2814-2834
AV07402.um	CGGACUUCAAAAUCAGUGAUA	2241	UAUCACUGAUUUUGAAGUCCG	2386	2815-2835
AV07403.um	GCUUCAAAAUCAGUGAUGGGA	2242	UCCCAUCACUGAUUUUGAAGC	2387	2818-2838
AV07404.um	GUUCAAAAUCAGUGAUGGGAA	2243	UUCCCAUCACUGAUUUUGAAC	2388	2819-2839
AV07405.um	GUCAAAAUCAGUGAUGGGAGA	2244	UCUCCCAUCACUGAUUUUGAC	2389	2820-2840
AV07406.um	GAAAAUCAGUGAUGGGAGUAA	2245	UUACUCCCAUCACUGAUUUUC	2390	2822-2842
AV07407.um	GAAAUUCAGUGAUGGGAGUAAA	2246	UUUACUCCCAUCACUGAUUUUC	2391	2823-2843
AV07408.um	GAAUCAGUGAUGGGAGUAAGA	2247	UCUUACUCCCAUCACUGAUUC	2392	2824-2844
AV07409.um	GAUCAGUGAUGGGAGUAAGAA	2248	UUCUUACUCCCAUCACUGAUC	2393	2825-2845
AV07410.um	GUCAGUGAUGGGAGUAAGAGA	2249	UCUCUUACUCCCAUCACUGAC	2394	2826-2846
AV07411.um	GAGUGAUGGGAGUAAGAGCAA	2250	UUGCUCUUACUCCCAUCACUC	2395	2828-2848
AV07412.um	GGUGAUGGGAGUAAGAGCAAA	2251	UUUGCUCUUACUCCCAUCACC	2396	2829-2849
AV07413.um	CUGAUGGGAGUAAGAGCAAAA	2252	UUUUGCUCUUACUCCCAUCAG	2397	2830-2850

AV07414.um	GGAUGGGAGUAAGAGCAAAUA	2253	UAUUUGCUCUUACUCCCAUCC	2398	2831-2851
AV07415.um	CAUGGGAGUAAGAGCAAAUUA	2254	UAAUUUGCUCUUACUCCCAUG	2399	2832-2852
AV07416.um	GUGGGAGUAAGAGCAAAUUUA	2255	UAAAUUUGCUCUUACUCCCAC	2400	2833-2853
AV07417.um	GGGGAGUAAGAGCAAAUUUCA	2256	UGAAAUUUGCUCUUACUCCCC	2401	2834-2854
AV07418.um	CGGAGUAAGAGCAAAUUUCAA	2257	UUGAAAUUUGCUCUUACUCCG	2402	2835-2855
AV07419.um	CGAGUAAGAGCAAAUUUCAUA	2258	UAUGAAAUUUGCUCUUACUCG	2403	2836-2856
AV07420.um	CAGUAAGAGCAAAUUUCAUCA	2259	UGAUGAAAUUUGCUCUUACUG	2404	2837-2857
AV07421.um	GGUAAGAGCAAAUUUCAUCUA	2260	UAGAUGAAAUUUGCUCUUACC	2405	2838-2858
AV07422.um	CUAAGAGCAAAUUUCAUCUUA	2261	UAAGAUGAAAUUUGCUCUUAG	2406	2839-2859
AV07423.um	GUUUCAUCUUUCCAAAUUGAA	2262	UUCAAUUUGGAAAGAUGAAAC	2407	2849-2869
AV07424.um	GUCUUUCCAAAUUGAUGGGUA	2263	UACCCAUCAAUUUGGAAAGAC	2408	2854-2874
AV07425.um	GCUUUCCAAAUUGAUGGGUGA	2264	UCACCCAUCAAUUUGGAAAGC	2409	2855-2875
AV07426.um	GUUUCCAAAUUGAUGGGUGGA	2265	UCCACCCAUCAAUUUGGAAAC	2410	2856-2876
AV07427.um	GUCCAAAUUGAUGGGUGGGCA	2266	UGCCCACCCAUCAAUUUGGAC	2411	2858-2878
AV07428.um	GAAUUGAUGGGUGGGCUAGUA	2267	UACUAGCCCACCCAUCAAUUC	2412	2862-2882

AV07429.um	GAUUGAUGGGUGGGCUAGUAA	2268	UUACUAGCCCACCCAUCAAUC	2413	2863-2883
AV07430.um	GUUGAUGGGUGGGCUAGUAAA	2269	UUUACUAGCCCACCCAUCAAC	2414	2864-2884
AV07431.um	GUGAUGGGUGGGCUAGUAAUA	2270	UAUUACUAGCCCACCCAUCAC	2415	2865-2885
AV07432.um	CAUGGGUGGGCUAGUAAUAAA	2271	UUUAUUACUAGCCCACCCAUG	2416	2867-2887
AV07433.um	GUGGGUGGGCUAGUAAUAAAA	2272	UUUUAUUACUAGCCCACCCAC	2417	2868-2888
AV07434.um	GUAGUAAUAAAAUAUUUAAAA	2273	UUUUAAAUAUUUUAAUACUAC	2418	2877-2897
AV07435.um	GAGUAAUAAAAUAUUUAAAAA	2274	UUUUUAAAUAUUUUAAUACUC	2419	2878-2898
AV07436.um	GGUAAUAAAAUAUUUAAAAAA	2275	UUUUUUAAAUAUUUUAAUACC	2420	2879-2899
AV07437.um	CUAAUAAAAUAUUUAAAAAAA	2276	UUUUUUUAAAUAUUUUAAUAG	2421	2880-2900
AV07438.um	GAAUAAAAUAUUUAAAAA AAA	2277	UUUUUUUUAAAUAUUUUAAUC	2422	2881-2901
AV07439.um	GAUAAAAUAUUUAAAAA AAAA	2278	UUUUUUUUUAAAUAUUUUAAUC	2423	2882-2902
AV07440.um	GUAAAAUAUUUAAAAA AAAAA	2279	UUUUUUUUUUAAAUAUUUUAC	2424	2883-2903
AV07441.um	GUAAAAAAAACAUUCAAAAA	2280	UUUUUGAAUGUUUUUUUUUAC	2425	2892-2912
AV07442.um	GAAAAAAAACAUUCAAAAA	2281	UUUUUUGAAUGUUUUUUUUUC	2426	2893-2913
AV07298-19-1.um	GCUGGGACGUACGGGUUGA	2427	UCAACCCGUACGUCCCAGC	2572	193-211

AV07299-19-1.um	ACGUACGGGUUGGGGGACA	2428	UGUCCCCCAACCCGUACGU	2573	199-217
AV07300-19-1.um	CGUACGGGUUGGGGGACAA	2429	UUGUCCCCCAACCCGUACG	2574	200-218
AV07301-19-1.um	AGGCUGACCUUCCAGAGCA	2430	UGCUCUGGAAGGUCAGCCU	2575	1418-1436
AV07302-19-1.um	GGCUGACCUUCCAGAGCCA	2431	UGGCUCUGGAAGGUCAGCC	2576	1419-1437
AV07303-19-1.um	GCCUGCUGCUGCUCCGCGA	2432	UCGCGGAGCAGCAGCAGGC	2577	1449-1467
AV07304-19-1.um	UCAGUAAAAGCAAAGACGA	2433	UCGUCUUUGCUUUUACUGA	2578	1511-1529
AV07305-19-1.um	CAGUAAAAGCAAAGACGGA	2434	UCCGUCUUUGCUUUUACUG	2579	1512-1530
AV07306-19-1.um	GUAAAAGCAAAGACGGGAA	2435	UUCCCGUCUUUGCUUUUAC	2580	1514-1532
AV07307-19-1.um	UGGAAGCGAUGACAAAAAA	2436	UUUUUUGUCAUCGCUUCCA	2581	1533-1551
AV07308-19-1.um	GGAAGCGAUGACAAAAAA	2437	UUUUUUUGUCAUCGCUUCC	2582	1534-1552
AV07309-19-1.um	AGCGAUGACAAAAAAGCCA	2438	UGGCUUUUUUGUCAUCGCU	2583	1537-1555
AV07310-19-1.um	GAUGACAAAAAAGCCAAGA	2439	UCUUGGCUUUUUUGUCAUC	2584	1540-1558
AV07311-19-1.um	CUUGAAAAAUAGGCCUUGA	2440	UCAAGGCCUAUUUUUCAAG	2585	1584-1602
AV07312-19-1.um	UUGAAAAAUAGGCCUUGCA	2441	UGCAAGGCCUAUUUUUCA	2586	1585-1603
AV07313-19-1.um	UGAAAAAUAGGCCUUGCCA	2442	UGGCAAGGCCUAUUUUUCA	2587	1586-1604

AV07314-19-1.um	GGCCUUGCCUUAGCCCCAA	2443	UUGGGGCUAAGGCAAGGCC	2588	1595-1613
AV07315-19-1.um	AAAUAGUCUACAAACCAGA	2444	UCUGGUUUGUAGACUAUUU	2589	2246-2264
AV07316-19-1.um	AAUAGUCUACAAACCAGUA	2445	UACUGGUUUGUAGACUAUU	2590	2247-2265
AV07317-19-1.um	GUCUACAAACCAGUUGACA	2446	UGUCAACUGGUUUGUAGAC	2591	2251-2269
AV07318-19-1.um	CUACAAACCAGUUGACCUA	2447	UAGGUCAACUGGUUUGUAG	2592	2253-2271
AV07319-19-1.um	CAAACCAGUUGACCUGAGA	2448	UCUCAGGUCAACUGGUUUG	2593	2256-2274
AV07320-19-1.um	ACCAGUUGACCUGAGCAAA	2449	UUUGCUCAGGUCAACUGGU	2594	2259-2277
AV07321-19-1.um	CAGUUGACCUGAGCAAGGA	2450	UCCUUGCUCAGGUCAACUG	2595	2261-2279
AV07322-19-1.um	UGAGCAAGGUGACCUCCAA	2451	UUGGAGGUCACCUUGCUC	2596	2270-2288
AV07323-19-1.um	AGGUGACCUCCAAGUGUGA	2452	UCACACUUGGAGGUCACCU	2597	2276-2294
AV07324-19-1.um	CCUCCAAGUGUGGCUCAUA	2453	UAUGAGCCACACUUGGAGG	2598	2282-2300
AV07325-19-1.um	AAGUGUGGCUCAUUAGGCA	2454	UGCCUAAUGAGCCACACUU	2599	2287-2305
AV07326-19-1.um	GUGUGGCUCAUUAGGCAAA	2455	UUUGCCUAAUGAGCCACAC	2600	2289-2307
AV07327-19-1.um	UGUGGCUCAUUAGGCAACA	2456	UGUUGCCUAAUGAGCCACA	2601	2290-2308
AV07328-19-1.um	CAUUAGGCAACAUCCAUCA	2457	UGAUGGAUGUUGCCUAAUG	2602	2297-2315

AV07329-19-1.um	UUAGGCAACAUCCAUCAUA	2458	UAUGAUGGAUGUUGCCUAA	2603	2299-2317
AV07330-19-1.um	GGCAACAUCCAUCAUAAAA	2459	UUUUAUGAUGGAUGUUGCC	2604	2302-2320
AV07331-19-1.um	CAACAUCCAUCAUAAACCA	2460	UGGUUUUAUGAUGGAUGUUG	2605	2304-2322
AV07332-19-1.um	ACAUCCAUCAUAAACCAGA	2461	UCUGGUUUUAUGAUGGAUGU	2606	2306-2324
AV07333-19-1.um	AUCCAUCAUAAACCAGGAA	2462	UUCCUGGUUUUAUGAUGGAU	2607	2308-2326
AV07334-19-1.um	CAUCAUAAACCAGGAGGUA	2463	UACCUCCUGGUUUUAUGAUG	2608	2311-2329
AV07335-19-1.um	ACCAGGAGGUGGCCAGGUA	2464	UACCUGGCCACCUCUGGU	2609	2319-2337
AV07336-19-1.um	CAGGUGGAAGUAAAAUCUA	2465	UAGAUUUUACUUCCACCUG	2610	2332-2350
AV07337-19-1.um	AAGUAAAAUCUGAGAAGCA	2466	UGCUUCUCAGAUUUUACUU	2611	2339-2357
AV07338-19-1.um	UAAAAUCUGAGAAGCUUGA	2467	UCAAGCUUCUCAGAUUUUA	2612	2342-2360
AV07339-19-1.um	AAAUCUGAGAAGCUUGACA	2468	UGUCAAGCUUCUCAGAUUU	2613	2344-2362
AV07340-19-1.um	AAUCUGAGAAGCUUGACUA	2469	UAGUCAAGCUUCUCAGAUU	2614	2345-2363
AV07341-19-1.um	AUCUGAGAAGCUUGACUUA	2470	UAAGUCAAGCUUCUCAGAU	2615	2346-2364
AV07342-19-1.um	UCUGAGAAGCUUGACUUCA	2471	UGAAGUCAAGCUUCUCAGA	2616	2347-2365
AV07343-19-1.um	CUGAGAAGCUUGACUUCAA	2472	UUGAAGUCAAGCUUCUCAG	2617	2348-2366

AV07344-19-1.um	AGAAGCUUGACUUCAAGGA	2473	UCCUUGAAGUCAAGCUUCU	2618	2351-2369
AV07345-19-1.um	GAAGCUUGACUUCAAGGAA	2474	UUCCUUGAAGUCAAGCUUC	2619	2352-2370
AV07346-19-1.um	GCUUGACUUCAAGGACAGA	2475	UCUGUCCUUGAAGUCAAGC	2620	2355-2373
AV07347-19-1.um	CUUGACUUCAAGGACAGAA	2476	UUCUGUCCUUGAAGUCAAG	2621	2356-2374
AV07348-19-1.um	UUGACUUCAAGGACAGAGA	2477	UCUCUGUCCUUGAAGUCAA	2622	2357-2375
AV07349-19-1.um	UGACUUCAAGGACAGAGUA	2478	UACUCUGUCCUUGAAGUCA	2623	2358-2376
AV07350-19-1.um	GACUUCAAGGACAGAGUCA	2479	UGACUCUGUCCUUGAAGUC	2624	2359-2377
AV07351-19-1.um	CAGAGUCCAGUCGAAGAUA	2480	UAUCUUCGACUGGACUCUG	2625	2370-2388
AV07352-19-1.um	GAGUCCAGUCGAAGAUUGA	2481	UCAAUCUUCGACUGGACUC	2626	2372-2390
AV07353-19-1.um	AGUCGAAGAUUGGGUCCCA	2482	UGGGACCCAAUCUUCGACU	2627	2378-2396
AV07354-19-1.um	GUCGAAGAUUGGGUCCCUA	2483	UAGGGACCCAAUCUUCGAC	2628	2379-2397
AV07355-19-1.um	AAGAUUGGGUCCCUUGGACA	2484	UGUCCAGGGACCCAAUCUU	2629	2383-2401
AV07356-19-1.um	UUGGGUCCCUUGGACAAUAA	2485	UUAUUGUCCAGGGACCCAA	2630	2387-2405
AV07357-19-1.um	GUCCCUUGGACAAUAUCACA	2486	UGUGAUAAUUGUCCAGGGAC	2631	2391-2409
AV07358-19-1.um	CCUGGACAAUAUCACCCAA	2487	UUGGGUGAUAAUUGUCCAGG	2632	2394-2412

AV07359-19-1.um	UGGACAAUAUCACCCACGA	2488	UCGUGGGUGAUAUUGUCCA	2633	2396-2414
AV07360-19-1.um	GGACAAUAUCACCCACGUA	2489	UACGUGGGUGAUAUUGUCC	2634	2397-2415
AV07361-19-1.um	AAAAAGAAUAAUGACCCGA	2490	UCGGGUCAUUAUUCUUUUU	2635	2711-2729
AV07362-19-1.um	AAAAGAAUAAUGACCCGGA	2491	UCCGGGUCAUUAUUCUUUU	2636	2712-2730
AV07363-19-1.um	AAAGAAUAAUGACCCGGCA	2492	UGCCGGGUCAUUAUUCUUU	2637	2713-2731
AV07364-19-1.um	CCCCCGCCUCUGCCCCCA	2493	UGGGGGCAGAGGGCGGGG	2638	2730-2748
AV07365-19-1.um	CCCGCCUCUGCCCCCAGA	2494	UCUGGGGGCAGAGGGCGGG	2639	2732-2750
AV07366-19-1.um	GCCCCAGCUGCUCCUCGA	2495	UCGAGGAGCAGCUGGGGGC	2640	2742-2760
AV07367-19-1.um	CCCAGCUGCUCCUCGCAGA	2496	UCUGCGAGGAGCAGCUGGG	2641	2745-2763
AV07368-19-1.um	UCCUCGCAGUUCGGUAAA	2497	UUUAACCGAACUGCGAGGA	2642	2754-2772
AV07369-19-1.um	CGCAGUUCGGUAAUUGGA	2498	UCCAAUUAACCGAACUGCG	2643	2758-2776
AV07370-19-1.um	GCAGUUCGGUAAUUGGUA	2499	UACCAAUUAACCGAACUGC	2644	2759-2777
AV07371-19-1.um	CAGUUCGGUAAUUGGUUA	2500	UAACCAAUUAACCGAACUG	2645	2760-2778
AV07372-19-1.um	AGUUCGGUAAUUGGUUAA	2501	UUAACCAAUUAACCGAACU	2646	2761-2779
AV07373-19-1.um	GUUCGGUAAUUGGUUAAA	2502	UUUAACCAAUUAACCGAAC	2647	2762-2780

AV07374-19-1.um	UUCGGUAAUUGGUUAAUA	2503	UAUUAACCAAUUAACCGAA	2648	2763-2781
AV07375-19-1.um	UCGGUAAUUGGUUAAUCA	2504	UGAUUAACCAAUUAACCGA	2649	2764-2782
AV07376-19-1.um	CGGUAAUUGGUUAAUCAA	2505	UUGAUUAACCAAUUAACCG	2650	2765-2783
AV07377-19-1.um	GGUAAUUGGUUAAUCACA	2506	UGUGAUUAACCAAUUAACC	2651	2766-2784
AV07378-19-1.um	GUAAUUGGUUAAUCACUA	2507	UAGUGAUUAACCAAUUAAC	2652	2767-2785
AV07379-19-1.um	UUAUUGGUUAAUCACUUA	2508	UAAGUGAUUAACCAAUUA	2653	2768-2786
AV07380-19-1.um	UAAUUGGUUAAUCACUUA	2509	UUAAGUGAUUAACCAAUUA	2654	2769-2787
AV07381-19-1.um	AAUUGGUUAAUCACUAAA	2510	UUUAAGUGAUUAACCAAUU	2655	2770-2788
AV07382-19-1.um	UGGUUAAUCACUUAACCUA	2511	UAGGUUAAGUGAUUAACCA	2656	2773-2791
AV07383-19-1.um	GUAAUCACUUAACCUGCA	2512	UGCAGGUUAAGUGAUUAAC	2657	2775-2793
AV07384-19-1.um	UUAUCACUUAACCUGCUA	2513	UAGCAGGUUAAGUGAUUAA	2658	2776-2794
AV07385-19-1.um	UAAUCACUUAACCUGCUUA	2514	UAAGCAGGUUAAGUGAUUA	2659	2777-2795
AV07386-19-1.um	AAUCACUUAACCUGCUUUA	2515	UAAAGCAGGUUAAGUGAUU	2660	2778-2796
AV07387-19-1.um	CUUAACCUGCUUUUGUCAA	2516	UUGACAAAAGCAGGUUAAG	2661	2783-2801
AV07388-19-1.um	UUAACCUGCUUUUGUCACA	2517	UGUGACAAAAGCAGGUUAA	2662	2784-2802

AV07389-19-1.um	UAACCUGCUUUUGUCACUA	2518	UAGUGACAAAAGCAGGUUA	2663	2785-2803
AV07390-19-1.um	AACCUGCUUUUGUCACUCA	2519	UGAGUGACAAAAGCAGGUU	2664	2786-2804
AV07391-19-1.um	ACCUGCUUUUGUCACUCGA	2520	UCGAGUGACAAAAGCAGGU	2665	2787-2805
AV07392-19-1.um	CUGCUUUUGUCACUCGGCA	2521	UGCCGAGUGACAAAAGCAG	2666	2789-2807
AV07393-19-1.um	GCUUUUGUCACUCGGCUUA	2522	UAAGCCGAGUGACAAAAGC	2667	2791-2809
AV07394-19-1.um	CUUUUGUCACUCGGCUUUA	2523	UAAAGCCGAGUGACAAAAG	2668	2792-2810
AV07395-19-1.um	UUUUGUCACUCGGCUUUGA	2524	UCAAAGCCGAGUGACAAAA	2669	2793-2811
AV07396-19-1.um	UCACUCGGCUUUGGCUCGA	2525	UCGAGCCAAAGCCGAGUGA	2670	2798-2816
AV07397-19-1.um	CACUCGGCUUUGGCUCGGA	2526	UCCGAGCCAAAGCCGAGUG	2671	2799-2817
AV07398-19-1.um	UUGGCUCGGGACUUCAAAA	2527	UUUUGAAGUCCCGAGCCAA	2672	2808-2826
AV07399-19-1.um	GCUCGGGACUUCAAAAUCA	2528	UGAUUUUGAAGUCCCGAGC	2673	2811-2829
AV07400-19-1.um	UCGGGACUUCAAAAUCAGA	2529	UCUGAUUUUGAAGUCCCGA	2674	2813-2831
AV07401-19-1.um	GGACUUCAAAAUCAGUGAA	2530	UUCACUGAUUUUGAAGUCC	2675	2816-2834
AV07402-19-1.um	GACUUCAAAAUCAGUGAUA	2531	UAUCACUGAUUUUGAAGUC	2676	2817-2835
AV07403-19-1.um	UUCAAAAUCAGUGAUGGGA	2532	UCCCAUCACUGAUUUUGAA	2677	2820-2838

AV07404-19-1.um	UCAAAAUCAGUGAUGGGAA	2533	UUCCCAUCACUGAUUUUGA	2678	2821-2839
AV07405-19-1.um	CAAAAUCAGUGAUGGGAGA	2534	UCUCCCAUCACUGAUUUUG	2679	2822-2840
AV07406-19-1.um	AAAUCAGUGAUGGGAGUAA	2535	UUACUCCCAUCACUGAUUU	2680	2824-2842
AV07407-19-1.um	AAUCAGUGAUGGGAGUAAA	2536	UUUACUCCCAUCACUGAUU	2681	2825-2843
AV07408-19-1.um	AUCAGUGAUGGGAGUAAGA	2537	UCUUACUCCCAUCACUGAU	2682	2826-2844
AV07409-19-1.um	UCAGUGAUGGGAGUAAGAA	2538	UUCUUACUCCCAUCACUGA	2683	2827-2845
AV07410-19-1.um	CAGUGAUGGGAGUAAGAGA	2539	UCUCUUACUCCCAUCACUG	2684	2828-2846
AV07411-19-1.um	GUGAUGGGAGUAAGAGCAA	2540	UUGCUCUUACUCCCAUCAC	2685	2830-2848
AV07412-19-1.um	UGAUGGGAGUAAGAGCAAA	2541	UUUGCUCUUACUCCCAUCA	2686	2831-2849
AV07413-19-1.um	GAUGGGAGUAAGAGCAAAA	2542	UUUUGCUCUUACUCCCAUC	2687	2832-2850
AV07414-19-1.um	AUGGGAGUAAGAGCAAAUA	2543	UAUUUGCUCUUACUCCCAU	2688	2833-2851
AV07415-19-1.um	UGGGAGUAAGAGCAAAUUA	2544	UAAUUUGCUCUUACUCCCA	2689	2834-2852
AV07416-19-1.um	GGGAGUAAGAGCAAAUUUA	2545	UAAAUUUGCUCUUACUCCC	2690	2835-2853
AV07417-19-1.um	GGAGUAAGAGCAAAUUUCA	2546	UGAAAUUUGCUCUUACUCC	2691	2836-2854
AV07418-19-1.um	GAGUAAGAGCAAAUUUCAA	2547	UUGAAAUUUGCUCUUACUC	2692	2837-2855

AV07419-19-1.um	AGUAAGAGCAAAUUUCAUA	2548	UAUGAAAUUUGCUCUUACU	2693	2838-2856
AV07420-19-1.um	GUAAGAGCAAAUUUCAUCA	2549	UGAUGAAAUUUGCUCUUAC	2694	2839-2857
AV07421-19-1.um	UAAGAGCAAAUUUCAUCUA	2550	UAGAUGAAAUUUGCUCUUA	2695	2840-2858
AV07422-19-1.um	AAGAGCAAAUUUCAUCUUA	2551	UAAGAUGAAAUUUGCUCUU	2696	2841-2859
AV07423-19-1.um	UUCAUCUUUCCAAAUUGAA	2552	UUCAAUUUGGAAAGAUGAA	2697	2851-2869
AV07424-19-1.um	CUUUCCAAAUUGAUGGGUA	2553	UACCCAUCAAUUUGGAAAG	2698	2856-2874
AV07425-19-1.um	UUUCCAAAUUGAUGGGUGA	2554	UCACCCAUCAAUUUGGAAA	2699	2857-2875
AV07426-19-1.um	UUCCAAAUUGAUGGGUGGA	2555	UCCACCCAUCAAUUUGGAA	2700	2858-2876
AV07427-19-1.um	CCAAAUUGAUGGGUGGGCA	2556	UGCCCACCCAUCAAUUUGG	2701	2860-2878
AV07428-19-1.um	AUUGAUGGGUGGGCUAGUA	2557	UACUAGCCCACCCAUCAAU	2702	2864-2882
AV07429-19-1.um	UUGAUGGGUGGGCUAGUAA	2558	UUACUAGCCCACCCAUCAA	2703	2865-2883
AV07430-19-1.um	UGAUGGGUGGGCUAGUAAA	2559	UUUACUAGCCCACCCAUCA	2704	2866-2884
AV07431-19-1.um	GAUGGGUGGGCUAGUAAUA	2560	UAUUACUAGCCCACCCAUC	2705	2867-2885
AV07432-19-1.um	UGGGUGGGCUAGUAAUAAA	2561	UUUAUUACUAGCCCACCCA	2706	2869-2887
AV07433-19-1.um	GGGUGGGCUAGUAAUAAAA	2562	UUUUAUUACUAGCCCACCC	2707	2870-2888

AV07434-19-1.um	AGUAAUAAAAUAUUUAAAA	2563	UUUUAAAUAUUUUUUUACU	2708	2879-2897
AV07435-19-1.um	GUAAUAAAAUAUUUAAAAA	2564	UUUUUAAAUAUUUUUUUAC	2709	2880-2898
AV07436-19-1.um	UAAUAAAAUAUUUAAAAAA	2565	UUUUUUAAAUAUUUUUUUA	2710	2881-2899
AV07437-19-1.um	AAUAAAAUAUUUAAAAAAA	2566	UUUUUUUAAAUAUUUUUUU	2711	2882-2900
AV07438-19-1.um	AUAAAAUAUUUAAAAAAA	2567	UUUUUUUUAAAUAUUUUUAU	2712	2883-2901
AV07439-19-1.um	UAAAAUAUUUAAAAAAA	2568	UUUUUUUUUAAAUAUUUUUA	2713	2884-2902
AV07440-19-1.um	AAAAUAUUUAAAAAAA	2569	UUUUUUUUUUAAAUAUUUUU	2714	2885-2903
AV07441-19-1.um	AAAAAAAACAUUCAAAAA	2570	UUUUUGAAGUUUUUUUUU	2715	2894-2912
AV07442-19-1.um	AAAAAAAACAUUCAAAAA	2571	UUUUUUGAAGUUUUUUUUU	2716	2895-2913

La Tabla 2 muestra determinadas secuencias de cadena antisentido y cadena sentido del agente de ARNi de la MAPT modificadas químicamente de la invención. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, se administra un agente de ARNi con una secuencia de polinucleótidos que se muestra en la Tabla 2 a una célula y/o un sujeto. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, se administra a un sujeto un agente de ARNi con una secuencia de polinucleótidos que se muestra en la Tabla 2. En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNi administrado a un sujeto comprende una cadena doble identificada en una fila en la Tabla 2, columna uno, e incluye las modificaciones de secuencia que se muestran en las secuencias de cadena sentido y antisentido en la misma fila en la Tabla 2, columnas tres y seis, respectivamente. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, una secuencia que se muestra en la Tabla 2 puede estar unida a (también se denomina “conjugada con” en el presente documento) un compuesto capaz de administrar el agente de ARNi a una célula y/o un tejido en un sujeto. Un ejemplo no limitante de un compuesto de suministro que puede usarse en determinadas realizaciones de la invención es un compuesto que contiene GalNAc o un compuesto que contiene GLS-15*. En la Tabla 2, la primera columna muestra la cadena doble AV n.º de las secuencias base, como se muestra en la Tabla 1. La Tabla 2 describe la cadena doble AV n.º y también muestra las modificaciones químicas incluidas en la secuencia sentido y antisentido de las cadenas dobles. Por ejemplo, la Tabla 1 muestra las secuencias base monocatenarias SEC ID N.º: 17 (sentido) y SEC ID N.º: 509 (antisentido), que juntas forman la cadena doble bicatenaria identificada como cadena doble AV n.º AV03736.um, y la Tabla 2 enumera la cadena doble AV n.º AV03736, lo que indica que la cadena doble de la SEC ID N.º: 1001 y la SEC ID N.º: 1247 incluye las secuencias base de la SEC ID N.º: 17 y la SEC ID N.º: 509, respectivamente, pero con las modificaciones químicas que se muestran en las secuencias sentido y antisentido que se muestran en las columnas tres y seis, respectivamente. La “cadena sentido n.º SS” en la columna dos de la Tabla 2 es el identificador asignado para la secuencia sentido (incluidas las modificaciones) que se muestra en la columna 3 de la misma fila. La “cadena antisentido n.º AS” en la columna cinco de la Tabla 2 es el identificador asignado para la secuencia antisentido (incluidas las modificaciones) que se muestra en la columna seis.

Tabla 2: Secuencias de cadena antisentido y cadena sentido del agente de ARNi de la MAPT modificado químicamente. Todas las secuencias se muestran en dirección 5' a 3'. Estas secuencias se utilizaron en determinados estudios con pruebas *in vitro* descritos en el presente documento.

Cadena doble AV n.º	Cadena sentido n.º SS	Secuencia sentido	SEC ID N.º	Cadena antisentido n.º AS	Secuencia antisentido	SEC ID N.º
AV03728	AV03728-SS	g*c*cuccucCfGcfuGfuccucu*c*a	993	AV03728-AS	u*Gf*agAfg(gUNA)acaGfcgGfaGfgag*g*c	1239
AV03729	AV03729-SS	g*g*gaguucGfaAfgUfgaugga*a*a	994	AV03729-AS	u*Uf*uccaUfcacUfucGfaAfcuc*c*c	1240
AV03730	AV03730-SS	c*g*aguucgAfaGfuGfauggaa*g*a	995	AV03730-AS	u*Cf*uuccAfucaCfuCfGafacu*c*g	1241
AV03731	AV03731-SS	c*a*guucgaAfgUfgAfuggaag*a*a	996	AV03731-AS	u*Uf*cuucCfaucAfcuUfcGfaac*u*g	1242
AV03732	AV03732-SS	g*g*uucgaaGfuGfaUfggaaga*u*a	997	AV03732-AS	u*Af*ucuuCfcuUfcUfcgaa*c*c	1243
AV03733	AV03733-SS	c*u*ucgaagUfgAfuGfgaagau*c*a	998	AV03733-AS	u*Gf*aucuUfccuUfcaCfuUfcga*a*g	1244
AV03734	AV03734-SS	g*u*cgaaguGfaUfgGfaagau*c*a	999	AV03734-AS	u*Uf*gaucUfuccAfucAfcUfucg*a*c	1245
AV03735	AV03735-SS	c*g*gcuacaCfcAfuGfcaccaa*g*a	1000	AV03735-AS	u*Cf*uuGfg(uUNA)gcaUfggUfgUfagc*c*g	1246
AV03736	AV03736-SS	c*a*cacggaCfGcfuGfgccuga*a*a	1001	AV03736-AS	u*Uf*ucAfg(gUNA)ccaGfcgUfcCfugug*u*g	1247
AV03737	AV03737-SS	g*a*cccccaGfcCfuGfgaagac*g*a	1002	AV03737-AS	u*Cf*guCfu(uUNA)ccaGfgcUfgGfggg*u*c	1248
AV03738	AV03738-SS	c*a*agcugcUfgGfuCfacguga*c*a	1003	AV03738-AS	u*Gf*ucAfc(gUNA)ugaCfcaGfcAfgcu*u*g	1249

AV03739	AV03739-SS	g*a*aagcucGfcAfuGfgucagu*a*a	1004	AV03739-AS	u*Uf*acugAfccaUfgcGfaGfcuu*u*c	1250
AV03740	AV03740-SS	g*a*agcucgCfaUfgGfucagua*a*a	1005	AV03740-AS	u*Uf*uacuGfaccAfugCfgAfgcu*u*c	1251
AV03741	AV03741-SS	g*g*cucgcaUfgGfuCfaguaaa*a*a	1006	AV03741-AS	u*Uf*uuuaCfugaCfcaUfgCfgag*c*c	1252
AV03742	AV03742-SS	g*u*cgcaugGfuCfaGfuaaaag*c*a	1007	AV03742-AS	u*Gf*cuuuUfacuGfacCfaUfgcg*a*c	1253
AV03743	AV03743-SS	g*c*gcauggUfcAfgUfaaaagc*a*a	1008	AV03743-AS	u*Uf*gcuUfuacUfgaCfcAfugc*g*c	1254
AV03744	AV03744-SS	g*g*caugguCfaGfuAfaaagca*a*a	1009	AV03744-AS	u*Uf*ugcuUfuuaCfugAfcCfaug*c*c	1255
AV03745	AV03745-SS	c*c*auggucAfgUfaAfaagcaa*a*a	1010	AV03745-AS	u*Uf*uugcUfuuuAfcuGfaCfcu*g*g	1256
AV03746	AV03746-SS	g*a*uggucaGfuAfaAfaagcaa*a*a	1011	AV03746-AS	u*Cf*uuugCfuuuUfacUfgAfcca*u*c	1257
AV03747	AV03747-SS	g*u*ggucagUfaAfaAfgcaaag*a*a	1012	AV03747-AS	u*Uf*cuuuGfcuuUfuaCfuGfacc*a*c	1258
AV03748	AV03748-SS	g*g*gucaguAfaAfaGfcaaaga*c*a	1013	AV03748-AS	u*Gf*ucuuUfgcuUfuuAfcUfgac*c*c	1259
AV03749	AV03749-SS	c*g*acuggaAfgCfgAfugacaa*a*a	1014	AV03749-AS	u*Uf*uuguCfaucGfcuUfcCfagu*c*g	1260
AV03750	AV03750-SS	c*a*cuggaaGfcGfaUfgacaaa*a*a	1015	AV03750-AS	u*Uf*uuugUfcuUfgcUfuCfcag*u*g	1261
AV03751	AV03751-SS	g*g*gaagcgAfuGfaCfaaaaaa*a*a	1016	AV03751-AS	u*Cf*uuuuUfuguCfauCfgCfuuc*c*c	1262
AV03752	AV03752-SS	c*g*aagcgaUfgAfcAfaaaaag*c*a	1017	AV03752-AS	u*Gf*cuuuUfuugUfcaUfcGfcuu*c*g	1263
AV03753	AV03753-SS	g*a*gcgaugAfcAfaAfaaagcc*a*a	1018	AV03753-AS	u*Uf*ggcuUfuuuUfguCfaUfcgc*u*c	1264

AV03754	AV03754-SS	g*g*cgaucaCfaAfaAfaagcca*a*a	1019	AV03754-AS	u*Uf*uggcUfuuuUfugUfcAfucg*c*c	1265
AV03755	AV03755-SS	g*u*caagggGfgCfuGfauggua*a*a	1020	AV03755-AS	u*Uf*uaccAfucaGfccCfcCfuug*a*c	1266
AV03756	AV03756-SS	c*g*ggcugaUfgGfuAfaaacga*a*a	1021	AV03756-AS	u*Uf*ucguUfuuaCfcaUfcAfgcc*c*g	1267
AV03757	AV03757-SS	c*g*gcugauGfgUfaAfaacgaa*g*a	1022	AV03757-AS	u*Cf*uucgUfuuuAfccAfuCfagc*c*g	1268
AV03758	AV03758-SS	c*c*ugauggUfaAfaAfcgaaga*u*a	1023	AV03758-AS	u*Af*ucuuCfguuUfuaCfcAfuca*g*g	1269
AV03759	AV03759-SS	g*u*gaugguAfaAfaCfgaagau*c*a	1024	AV03759-AS	u*Gf*aucuUfcguUfuuAfcCfauc*a*c	1270
AV03760	AV03760-SS	g*g*augguaAfaAfcGfaagauc*g*a	1025	AV03760-AS	u*Cf*gaucUfucgUfuuUfaCfcac*c*c	1271
AV03761	AV03761-SS	g*g*ccaccaGfgAfuUfccagca*a*a	1026	AV03761-AS	u*Uf*ugCfu(gUNA)gaaUfccUfgGfugg*c*c	1272
AV03762	AV03762-SS	g*c*aggauuCfcAfgCfaaaaac*c*a	1027	AV03762-AS	u*Gf*guuuUfugcUfggAfaUfccu*g*c	1273
AV03763	AV03763-SS	g*a*ccacccAfgCfuCfugguga*a*a	1028	AV03763-AS	u*Uf*ucacCfagaGfcuGfgGfugg*u*c	1274
AV03764	AV03764-SS	g*c*uggugaAfcCfuCfcaaaau*c*a	1029	AV03764-AS	u*Gf*auuuUfggaGfguUfcAfcca*g*c	1275
AV03765	AV03765-SS	g*u*ggugaaCfcUfcCfaaauc*a*a	1030	AV03765-AS	u*Uf*gauuUfuggAfggUfuCfacc*a*c	1276
AV03766	AV03766-SS	g*a*ccuccaAfaAfuCfagggga*u*a	1031	AV03766-AS	u*Af*ucCfc(cUNA)ugaUfuuUfgGfagg*u*c	1277
AV03767	AV03767-SS	g*u*cggcucCfaCfuGfagaacc*u*a	1032	AV03767-AS	u*Af*gguuCfucaGfugGfaGfccg*a*c	1278
AV03768	AV03768-SS	g*g*ugugcaAfaUfaGfucuaca*a*a	1033	AV03768-AS	u*Uf*uguaGfacuAfuUfgCfaca*c*c	1279

AV03769	AV03769-SS	c*u*gugcaaAfuAfgUfcuacaa*a*a	1034	AV03769-AS	u*Uf*uuguAfgacUfauUfuGfcac*a*g	1280
AV03770	AV03770-SS	g*g*ugcaaaUfaGfuCfuacaaa*c*a	1035	AV03770-AS	u*Gf*uuugUfagaCfuaUfuUfgca*c*c	1281
AV03771	AV03771-SS	c*u*gcaauAfgUfcUfacaac*c*a	1036	AV03771-AS	u*Gf*guuuGfuagAfcuAfuUfugc*a*g	1282
AV03772	AV03772-SS	g*g*caauaGfuCfuAfaaac*c*a	1037	AV03772-AS	u*Uf*gguuUfguaGfacUfaUfuug*c*c	1283
AV03773	AV03773-SS	g*a*auagucUfaCfaAfacaguu*a	1038	AV03773-AS	u*Af*acugGfuuuGfuaGfaCfua*u*c	1284
AV03774	AV03774-SS	g*a*uagucuAfaAfaAfcaguu*g*a	1039	AV03774-AS	u*Cf*aaCfu(gUNA)guuUfguAfgAfcua*u*c	1285
AV03775	AV03775-SS	g*u*agucuaCfaAfaCfcaguug*a*a	1040	AV03775-AS	u*Uf*caacUfgguUfugUfaGfacu*a*c	1286
AV03776	AV03776-SS	g*u*acaaacCfaGfuUfgaccug*a*a	1041	AV03776-AS	u*Uf*caGfg(uUNA)caaCfugGfuUfugu*a*c	1287
AV03777	AV03777-SS	c*c*aaggugAfcCfuCfcaagug*u*a	1042	AV03777-AS	u*Af*cacuUfggaGfguCfaCfcuu*g*g	1288
AV03778	AV03778-SS	g*g*accuccAfaGfuGfuggcuc*a*a	1043	AV03778-AS	u*Uf*gaGfc(cUNA)acaCfuGfgAfggu*c*c	1289
AV03779	AV03779-SS	g*c*cuccaaGfuGfuGfgcucuu*a	1044	AV03779-AS	u*Af*augaGfccaCfacUfuGfgag*g*c	1290
AV03780	AV03780-SS	g*u*ccaaguGfuGfgCfucauu*a	1045	AV03780-AS	u*Cf*uaauGfagcCfacAfcUfugg*a*c	1291
AV03781	AV03781-SS	c*u*guggcuCfaUfuAfggcaac*a*a	1046	AV03781-AS	u*Uf*guUfg(cUNA)cuaAfugAfgCfcac*a*g	1292
AV03782	AV03782-SS	c*u*ggcucaUfuAfgGfcaacau*c*a	1047	AV03782-AS	u*Gf*auguUfgccUfaaUfgAfgcc*a*g	1293
AV03783	AV03783-SS	c*g*cucauuAfgGfcAfacuacc*a*a	1048	AV03783-AS	u*Uf*ggauGfuugCfcuAfaUfgag*c*g	1294

AV03784	AV03784-SS	c*c*ucauuaGfgCfaAfcaucca*u*a	1049	AV03784-AS	u*Af*uggaUfguuGfccUfaAfuga*g*g	1295
AV03785	AV03785-SS	g*c*auuaggCfaAfcAfuccauc*a*a	1050	AV03785-AS	u*Uf*gaugGfaugUfugCfcUfaau*g*c	1296
AV03786	AV03786-SS	g*u*uaggcaAfcAfuCfcaucau*a*a	1051	AV03786-AS	u*Uf*augaUfggaUfgUfgCfcua*a*c	1297
AV03787	AV03787-SS	g*u*aggcaaCfaUfcCfaucaua*a*a	1052	AV03787-AS	u*Uf*uaugAfuggAfugUfuGfccu*a*c	1298
AV03788	AV03788-SS	g*g*gcaacaUfcCfaUfcauaaa*c*a	1053	AV03788-AS	u*Gf*uuuaUfgauGfgaUfgUfugc*c*c	1299
AV03789	AV03789-SS	c*c*aacaucCfaUfcAfuaaacc*a*a	1054	AV03789-AS	u*Uf*gguuUfaugAfugGfaUfguu*g*g	1300
AV03790	AV03790-SS	g*a*cauccaUfcAfuAfaaccag*g*a	1055	AV03790-AS	u*Cf*cuGfg(uUNA)uuuUfgaUfgGfaug*u*c	1301
AV03791	AV03791-SS	g*c*agguggAfaGfuAfaaaucu*g*a	1056	AV03791-AS	u*Cf*agauUfuuaCfuuCfcAfccu*g*c	1302
AV03792	AV03792-SS	g*a*gguggaAfgUfaAfaaucug*a*a	1057	AV03792-AS	u*Uf*cagaUfuuuAfcuUfcCfacc*u*c	1303
AV03793	AV03793-SS	g*g*guggaaGfuAfaAfaucuga*g*a	1058	AV03793-AS	u*Cf*ucagAfuuuUfacUfuCfcac*c*c	1304
AV03794	AV03794-SS	c*g*uggaagUfaAfaAfucugag*a*a	1059	AV03794-AS	u*Uf*cucaGfauuUfuaCfuUfcca*c*g	1305
AV03795	AV03795-SS	c*u*ggaaguAfaAfaUfcugaga*a*a	1060	AV03795-AS	u*Uf*ucucAfgauUfuUAfcUfucc*a*g	1306
AV03796	AV03796-SS	g*g*gaaguaAfaAfuCfugagaa*g*a	1061	AV03796-AS	u*Cf*uucuCfagaUfuUfaCfuuc*c*c	1307
AV03797	AV03797-SS	c*a*aguaaaAfuCfuGfagaagc*u*a	1062	AV03797-AS	u*Af*gcuuCfucaGfauUfuUfacu*u*g	1308
AV03798	AV03798-SS	g*a*guaaaaUfcUfgAfgaagcu*u*a	1063	AV03798-AS	u*Af*agcuUfcucAfgaUfuUfuac*u*c	1309

AV03799	AV03799-SS	c*u*aaaucUfgAfgAfgcuug*a*a	1064	AV03799-AS	u*Uf*caagCfuucUfcaGfaUfuuu*a*g	1310
AV03800	AV03800-SS	g*c*ugagaaGfcUfuGfacuuc*a*a	1065	AV03800-AS	u*Uf*ugaaGfucaAfgcUfuCfuca*g*c	1311
AV03801	AV03801-SS	g*u*gagaagCfuUfgAfcuuc*a*a	1066	AV03801-AS	u*Cf*uugaAfgucAfgCfuUfcuc*a*c	1312
AV03802	AV03802-SS	g*g*aagcuuGfaCfuUfcaagga*c*a	1067	AV03802-AS	u*Gf*ucCfu(uUNA)gaaGfucAfaGfcuu*c*c	1313
AV03803	AV03803-SS	c*a*agcuugAfcUfuCfaaggac*a*a	1068	AV03803-AS	u*Uf*guccUfugaAfguCfaAfgcu*u*g	1314
AV03804	AV03804-SS	g*a*aggacaGfaGfuCfcagucg*a*a	1069	AV03804-AS	u*Uf*cgAfc(uUNA)ggaCfucUfgUfcu*u*c	1315
AV03805	AV03805-SS	g*c*agagucCfaGfuCfgaagau*u*a	1070	AV03805-AS	u*Af*aucuUfcgaCfugGfaCfucu*g*c	1316
AV03806	AV03806-SS	g*u*ggcggaGfgAfaAfuaaaaa*g*a	1071	AV03806-AS	u*Cf*uuuuUfauUfccUfcCfccc*a*c	1317
AV03807	AV03807-SS	c*g*cggaggAfaAfuAfaaaaga*u*a	1072	AV03807-AS	u*Af*ucuuUfuuaUfuuCfcUfccg*c*g	1318
AV03808	AV03808-SS	g*a*auaaaaAfgAfuUfgaaacc*c*a	1073	AV03808-AS	u*Gf*ggUfu(uUNA)caaUfcuUfuUfuau*u*c	1319
AV03809	AV03809-SS	g*a*aaagauUfgAfaAfcccaca*a*a	1074	AV03809-AS	u*Uf*ugUfg(gUNA)guuUfcaAfuCfuuu*u*c	1320
AV03810	AV03810-SS	g*g*gagaucGfuGfuAfcaaguc*g*a	1075	AV03810-AS	u*Cf*gaCfu(uUNA)guaCfacGfaUfcuc*c*c	1321
AV03811	AV03811-SS	c*c*aucucaGfcAfaUfgucucc*u*a	1076	AV03811-AS	u*Af*ggAfg(aUNA)cauUfgcUfgAfgau*g*g	1322
AV03812	AV03812-SS	g*a*ccggcaGfcAfuCfacaug*g*a	1077	AV03812-AS	u*Cf*caUfg(uUNA)cgaUfgcUfgCfcgg*u*c	1323
AV03813	AV03813-SS	g*a*gcaucgAfcAfuGfguagac*u*a	1078	AV03813-AS	u*Af*gucuAfccaUfguCfgAfugc*u*c	1324

AV03814	AV03814-SS	c*c*cacgcuAfgCfuGfacgagg*u*a	1079	AV03814-AS	u*Af*ccUfc(gUNA)ucaGfcuAfgCfugug*g*g	1325
AV03815	AV03815-SS	c*c*caagcaGfgGfuUfugugau*c*a	1080	AV03815-AS	u*Gf*aucaCfaaaCfccUfgCfuug*g*g	1326
AV03816	AV03816-SS	g*c*aagcagGfgUfuUfgugauc*a*a	1081	AV03816-AS	u*Uf*gaucAfcaaAfccCfuGfcuu*g*c	1327
AV03817	AV03817-SS	g*u*gagagaGfuGfuGfgaaaaa*a*a	1082	AV03817-AS	u*Uf*uuuuUfccafacUfcUfcuc*a*c	1328
AV03818	AV03818-SS	g*a*aaaaaaGfaAfuAfaugacc*c*a	1083	AV03818-AS	u*Gf*ggUfc(aUNA)uuaUfucUfuUfuuu*u*c	1329
AV03819	AV03819-SS	g*u*ccucgcAfgUfuCfpguuua*u*a	1084	AV03819-AS	u*Af*uuaaCfcgaAfcuGfcGfagg*a*c	1330
AV03820	AV03820-SS	g*a*auugguUfaAfuCfacuuua*c*a	1085	AV03820-AS	u*Gf*uuaaGfugaUfuaAfcCfaau*u*c	1331
AV03821	AV03821-SS	g*a*uugguuAfaUfcAfcuuac*c*a	1086	AV03821-AS	u*Gf*guuaAfgugAfuuaAfaCfcaa*u*c	1332
AV03822	AV03822-SS	g*u*gguuuaUfcAfcUfuaaccu*g*a	1087	AV03822-AS	u*Cf*agguUfaagUfgaUfuAfacc*a*c	1333
AV03823	AV03823-SS	g*a*aucacuUfaAfcCfugcuuu*u*a	1088	AV03823-AS	u*Af*aaagCfaggUfuaAfgUfgau*u*c	1334
AV03824	AV03824-SS	g*a*ucacuuAfaCfcUfgcuuuu*g*a	1089	AV03824-AS	u*Cf*aaaaGfcagGfuuaAfaGfuga*u*c	1335
AV03825	AV03825-SS	g*u*cacuuAfcCfuGfcuuuug*u*a	1090	AV03825-AS	u*Af*caaaAfgcaGfguUfaAfgug*a*c	1336
AV03826	AV03826-SS	g*c*acuuaaCfcUfgCfuuuugu*c*a	1091	AV03826-AS	u*Gf*acaaAfagcAfggUfuAfagu*g*c	1337
AV03827	AV03827-SS	c*g*cucgggAfcUfuCfaaauc*a*a	1092	AV03827-AS	u*Uf*gauuUfugaAfguCfcCfag*c*g	1338
AV03828	AV03828-SS	g*u*cgggacUfuCfaAfaaucag*u*a	1093	AV03828-AS	u*Af*cugaUfuuuGfaaGfuCfccg*a*c	1339

AV03829	AV03829-SS	c*g*acuucaAfaAfuCfagugau*g*a	1094	AV03829-AS	u*Cf*aucaCfugaUfuUfgAfagu*c*g	1340
AV03830	AV03830-SS	c*a*cuucaaAfaUfcAfgugaug*g*a	1095	AV03830-AS	u*Cf*caUfc(aUNA)cugAfuUfuGfaag*u*g	1341
AV03831	AV03831-SS	g*a*agagcaAfaUfuUfcaucu*u*a	1096	AV03831-AS	u*Af*aagaUfgaaAfuUfgCfucu*u*c	1342
AV03832	AV03832-SS	g*a*gagcaaAfuUfuCfaucuuu*c*a	1097	AV03832-AS	u*Gf*aaagAfugaAfauUfuGfcuc*u*c	1343
AV03833	AV03833-SS	g*g*agcaaaUfuUfcAfucuuuc*c*a	1098	AV03833-AS	u*Gf*gaaaGfaugAfaaUfuUfgcu*c*c	1344
AV03834	AV03834-SS	c*a*gcaaauUfuCfaUfcuuucc*a*a	1099	AV03834-AS	u*Uf*ggaaAfgauGfaaAfuUfugc*u*g	1345
AV03835	AV03835-SS	g*g*caauuUfcAfuCfuuucca*a*a	1100	AV03835-AS	u*Uf*uggaAfagaUfgaAfaUfuug*c*c	1346
AV03836	AV03836-SS	c*c*aaauuUfcUfuUfuuccaa*a*a	1101	AV03836-AS	u*Uf*uuggAfaagAfugAfaAfuuu*g*g	1347
AV03837	AV03837-SS	g*a*aaauucAfuCfuUfuccaaa*u*a	1102	AV03837-AS	u*Af*uuugGfaaaGfauGfaAfaau*u*c	1348
AV03838	AV03838-SS	g*a*auuucUfcUfuUfccaaau*u*a	1103	AV03838-AS	u*Af*auuuGfgaaAfgaUfgAfaa*u*c	1349
AV03839	AV03839-SS	g*a*uuucaUfuUfuCfcaauu*g*a	1104	AV03839-AS	u*Cf*auuuUfggaAfagAfuGfaaa*u*c	1350
AV03840	AV03840-SS	g*u*ucaucuUfuCfcAfaauuga*u*a	1105	AV03840-AS	u*Af*ucaaUfuugGfaaAfgAfuga*a*c	1351
AV03841	AV03841-SS	c*g*gugggcUfaGfuAfaaaaa*u*a	1106	AV03841-AS	u*Af*uuuuAfuuaCfuaGfcCfcac*c*g	1352
AV03842	AV03842-SS	g*g*ggcuagUfaAfuAfaauau*u*a	1107	AV03842-AS	u*Af*auauUfuuaUfuaCfuAfgcc*c*c	1353
AV03843	AV03843-SS	g*c*aggcaaUfuCfcUfuuugau*u*a	1108	AV03843-AS	u*Af*aucaAfaagGfaaUfuGfccu*g*c	1354

AV03844	AV03844-SS	g*g*gcaauuCfcUfuUfugauuc*u*a	1109	AV03844-AS	u*Af*gaauCfaaaAfggAfaUfugc*c*c	1355
AV03845	AV03845-SS	c*g*cagcaaCfaAfaGfgauuug*a*a	1110	AV03845-AS	u*Uf*caaaUfccuUfugUfuGfcug*c*g	1356
AV03846	AV03846-SS	g*a*gcaacaAfaGfgAfuugaa*a*a	1111	AV03846-AS	u*Uf*uucaAfaucCfuUfgUfugc*u*c	1357
AV03847	AV03847-SS	g*g*caacaaAfgGfaUfuugaaa*c*a	1112	AV03847-AS	u*Gf*uuucAfaauCfcuUfuGfuug*c*c	1358
AV03848	AV03848-SS	c*c*aacaaaGfgAfuUfugaaac*u*a	1113	AV03848-AS	u*Af*guuuCfaaaUfccUfuUfguu*g*g	1359
AV03849	AV03849-SS	g*a*acaaagGfaUfuUfgaaacu*u*a	1114	AV03849-AS	u*Af*aguuUfcaaAfucCfuUfugu*u*c	1360
AV03850	AV03850-SS	g*a*caaaggAfuUfuGfaaacuu*g*a	1115	AV03850-AS	u*Cf*aaguUfucaAfauCfcUfuug*u*c	1361
AV03851	AV03851-SS	g*c*aaaggaUfuUfgAfaacuug*g*a	1116	AV03851-AS	u*Cf*caagUfuucAfaaUfcCfuuu*g*c	1362
AV03852	AV03852-SS	g*a*aaggauUfuGfaAfacuugg*u*a	1117	AV03852-AS	u*Af*ccaaGfuuuCfaaAfuCfcuu*u*c	1363
AV03853	AV03853-SS	g*a*ggauuuGfaAfaCfuuggug*u*a	1118	AV03853-AS	u*Af*caccAfaguUfucAfaAfucc*u*c	1364
AV03854	AV03854-SS	g*g*gauuugAfaAfcUfuggugu*g*a	1119	AV03854-AS	u*Cf*acAfc(cUNA)aagUfuuCfaAfauc*c*c	1365
AV03855	AV03855-SS	c*a*uuugaaAfcUfuGfgugugu*u*a	1120	AV03855-AS	u*Af*acacAfccaAfguUfuCfaaa*u*g	1366
AV03856	AV03856-SS	g*u*uugaaaCfuUfgGfuguguu*c*a	1121	AV03856-AS	u*Gf*aacaCfaccAfagUfuUfcaa*a*c	1367
AV03857	AV03857-SS	g*g*ccaugaUfuUfuGfgccacu*u*a	1122	AV03857-AS	u*Af*agUfg(gUNA)ccaAfaaUfcAfugg*c*c	1368
AV03858	AV03858-SS	g*u*uggccaCfuUfuGfcagacc*u*a	1123	AV03858-AS	u*Af*ggUfc(uUNA)gcaAfagUfgGfcca*a*c	1369

AV03859	AV03859-SS	g*u*uugcagAfcCfuGfggacuu*u*a	1124	AV03859-AS	u*Af*aaguCfccaGfguCfuGfcaa*a*c	1370
AV03860	AV03860-SS	c*a*ccugggAfcUfuUfagggcu*a*a	1125	AV03860-AS	u*Uf*agCfc(cUNA)uaaAfguCfcCfagg*u*g	1371
AV03861	AV03861-SS	c*a*cuuuagGfgCfuAfacuagu*u*a	1126	AV03861-AS	u*Af*acugGfuuaGfccCfuAfaag*u*g	1372
AV03862	AV03862-SS	c*g*gcuaacCfaGfuUfcucuuu*g*a	1127	AV03862-AS	u*Cf*aaagAfgaaCfugGfuUfagc*c*g	1373
AV03863	AV03863-SS	c*g*cuaaccAfgUfuCfucuug*u*a	1128	AV03863-AS	u*Af*caaaGfagaAfcuGfgUfuag*c*g	1374
AV03864	AV03864-SS	g*u*aaccagUfuCfuCfuugua*a*a	1129	AV03864-AS	u*Uf*uacaAfagaGfaaCfuGfguu*a*c	1375
AV03865	AV03865-SS	g*a*accaguUfcUfcUfuuguaa*g*a	1130	AV03865-AS	u*Cf*uuacAfaagAfgaAfcUfggu*u*c	1376
AV03866	AV03866-SS	g*a*ccaguuCfuCfuUfuguaag*g*a	1131	AV03866-AS	u*Cf*cuuaCfaaaGfagAfaCfugg*u*c	1377
AV03867	AV03867-SS	g*c*caguucUfcUfuUfguaagg*a*a	1132	AV03867-AS	u*Uf*ccuuAfcaaAfgaGfaAfcug*g*c	1378
AV03868	AV03868-SS	g*c*aguucuCfuUfuGfuaagga*c*a	1133	AV03868-AS	u*Gf*uccuUfacaAfagAfgAfacu*g*c	1379
AV03869	AV03869-SS	g*g*uucucuUfuGfuAfacuagu*u*a	1134	AV03869-AS	u*Af*agucCfuuaCfaaAfgAfgaa*c*c	1380
AV03870	AV03870-SS	g*u*cucuuuGfuAfaGfgacuug*u*a	1135	AV03870-AS	u*Af*caagUfccuUfacAfaAfgag*a*c	1381
AV03871	AV03871-SS	g*a*aucacuGfcCfuAfuacccc*u*a	1136	AV03871-AS	u*Af*ggGfg(uUNA)auaGfgcAfgUfgau*u*c	1382
AV03872	AV03872-SS	g*u*acuccaUfaCfuGfagggug*a*a	1137	AV03872-AS	u*Uf*caCfc(cUNA)ucaGfuaUfgGfagu*a*c	1383
AV03873	AV03873-SS	g*c*auacugAfgGfgUfgaaauu*a*a	1138	AV03873-AS	u*Uf*aaauUfcacCfcuCfaGfuau*g*c	1384

AV03874	AV03874-SS	g*a*uacugaGfgGfuGfaauua*a*a	1139	AV03874-AS	u*Uf*uaauUfucaCfccUfcAfgua*u*c	1385
AV03875	AV03875-SS	g*u*acugagGfgUfgAfaauuaa*g*a	1140	AV03875-AS	u*Cf*uuuaUfuucAfccCfuCfagu*a*c	1386
AV03876	AV03876-SS	g*a*cugaggGfuGfaAfaauaag*g*a	1141	AV03876-AS	u*Cf*cuuaAfuuuCfacCfcUfcag*u*c	1387
AV03877	AV03877-SS	c*a*gggugaAfaUfuAfaaggaa*g*a	1142	AV03877-AS	u*Cf*uuCfc(cUNA)uuuAfuUfcAfccc*u*g	1388
AV03878	AV03878-SS	c*g*accccaGfcCfuCfucacuc*u*a	1143	AV03878-AS	u*Af*gaguGfagaGfgcUfgGfggu*c*g	1389
AV03879	AV03879-SS	g*a*gccucuCfaCfuCfucaguu*c*a	1144	AV03879-AS	u*Gf*aacuGfagaGfugAfgAfggc*u*c	1390
AV03880	AV03880-SS	c*c*cucucaCfuCfuCfaguucc*a*a	1145	AV03880-AS	u*Uf*ggaaCfugaGfagUfgAfgag*g*g	1391
AV03881	AV03881-SS	g*c*acucucAfgUfuCfcacuca*u*a	1146	AV03881-AS	u*Af*ugagUfggaAfcuGfaGfagu*g*c	1392
AV03882	AV03882-SS	g*a*cucucaGfuUfcCfacucau*c*a	1147	AV03882-AS	u*Gf*augaGfuggAfacUfgAfgag*u*c	1393
AV03883	AV03883-SS	g*u*caguucCfaCfuCfauccaa*c*a	1148	AV03883-AS	u*Gf*uuggAfugaGfugGfaAfcug*a*c	1394
AV03884	AV03884-SS	g*u*agguguUfuCfuGfccuugu*u*a	1149	AV03884-AS	u*Af*acaaGfgcaGfaAfcAfcu*a*c	1395
AV03885	AV03885-SS	c*u*guuucuGfcCfuUfguugac*a*a	1150	AV03885-AS	u*Uf*gucaAfcaaGfgcAfgAfaac*a*g	1396
AV03886	AV03886-SS	g*g*uuucugCfcUfuGfuugaca*u*a	1151	AV03886-AS	u*Af*ugucAfacaAfggCfaGfaaa*c*c	1397
AV03887	AV03887-SS	c*c*uggaagCfcAfuGfcugucu*g*a	1152	AV03887-AS	u*Cf*agAfc(aUNA)gcaUfggCfuUfcca*g*g	1398
AV03888	AV03888-SS	c*g*aagccaUfgCfuGfucuguu*c*a	1153	AV03888-AS	u*Gf*aacaGfacaGfcaUfgGfcuu*c*g	1399

AV03889	AV03889-SS	g*a*gccaugCfuGfuCfuguucu*g*a	1154	AV03889-AS	u*Cf*agaaCfagaCfagCfaUfggc*u*c	1400
AV03890	AV03890-SS	c*c*caugcuGfuCfuGfuucugc*u*a	1155	AV03890-AS	u*Af*gcagAfacaGfacAfgCfaug*g*g	1401
AV03891	AV03891-SS	c*c*uggagcAfgCfuGfaacaua*u*a	1156	AV03891-AS	u*Af*uaugUfucaGfcUfcc*a*g*g	1402
AV03892	AV03892-SS	g*u*ggagcaGfcUfgAfacaaua*u*a	1157	AV03892-AS	u*Uf*auauGfuucAfgcUfgCfucc*a*c	1403
AV03893	AV03893-SS	c*a*gcagcuGfaAfcAfuauaca*u*a	1158	AV03893-AS	u*Af*uguaUfaugUfucAfgCfugc*u*g	1404
AV03894	AV03894-SS	c*c*agcugaAfcAfuAfuacaua*g*a	1159	AV03894-AS	u*Cf*uaugUfauaUfguUfcAfgcu*g*g	1405
AV03895	AV03895-SS	g*a*gcugaaCfaUfaUfacauag*a*a	1160	AV03895-AS	u*Uf*cuauGfuauAfugUfuCfagc*u*c	1406
AV03896	AV03896-SS	g*g*cugaacAfuAfuAfcuaga*u*a	1161	AV03896-AS	u*Af*ucuaUfguaUfauGfuUfcag*c*c	1407
AV03897	AV03897-SS	c*c*ugaacaUfaUfaCfauagau*g*a	1162	AV03897-AS	u*Cf*aucuAfuguAfuaUfgUfuca*g*g	1408
AV03898	AV03898-SS	g*u*gaacauAfuAfcAfuagaug*u*a	1163	AV03898-AS	u*Af*caucUfaugUfauAfuGfuuc*a*c	1409
AV03899	AV03899-SS	g*g*aacauaUfaCfaUfagaugu*u*a	1164	AV03899-AS	u*Af*acauCfuauGfuaUfaUfguu*c*c	1410
AV03900	AV03900-SS	c*a*acauauAfcAfuAfgauguu*g*a	1165	AV03900-AS	u*Cf*aacaUfcuaUfguAfuAfugu*u*g	1411
AV03901	AV03901-SS	g*a*cauauaCfaUfaGfauguug*c*a	1166	AV03901-AS	u*Gf*caacAfucuAfugUfaUfaug*u*c	1412
AV03902	AV03902-SS	g*g*aguuguAfgUfuGfgauuug*u*a	1167	AV03902-AS	u*Af*caaaUfccAfcuAfcAfacu*c*c	1413
AV03903	AV03903-SS	c*a*guuguaGfuUfgGfauuugu*c*a	1168	AV03903-AS	u*Gf*acaaAfuccAfacUfaCfaac*u*g	1414

AV03904	AV03904-SS	g*g*uuguagUfuGfgAfuuguc*u*a	1169	AV03904-AS	u*Af*gacaAfaucCfaaCfuAfcaa*c*c	1415
AV03905	AV03905-SS	c*u*uguaguUfgGfaUfuugucu*g*a	1170	AV03905-AS	u*Cf*agacAfaauCfcaAfcUfaca*a*g	1416
AV03906	AV03906-SS	g*u*guaguuGfgAfuUfugucug*u*a	1171	AV03906-AS	u*Af*cagaCfaaaUfccAfaCfuac*a*c	1417
AV03907	AV03907-SS	g*g*uaguugGfaUfuUfgucugu*u*a	1172	AV03907-AS	u*Af*acagAfcaaAfucCfaAfcua*c*c	1418
AV03908	AV03908-SS	c*u*aguuggAfuUfuGfucuguu*u*a	1173	AV03908-AS	u*Af*aacaGfacaAfauCfcAfacu*a*g	1419
AV03909	AV03909-SS	g*a*guuggaUfuUfgUfcuguuu*a*a	1174	AV03909-AS	u*Uf*aaacAfgacAfaaUfcCfaac*u*c	1420
AV03910	AV03910-SS	g*g*uuggauUfuGfuCfuguuuu*a*a	1175	AV03910-AS	u*Af*uaaaCfagaCfaaAfuCfcaa*c*c	1421
AV03911	AV03911-SS	c*u*uggauuUfgUfcUfguuuau*g*a	1176	AV03911-AS	u*Cf*auaaAfcagAfcaAfaUfcca*a*g	1422
AV03912	AV03912-SS	g*u*ggauuuGfuCfuGfuuuau*g*a	1177	AV03912-AS	u*Gf*cauaAfacuGfacAfaAfucc*a*c	1423
AV03913	AV03913-SS	g*g*gauuugUfcUfgUfuuaugc*u*a	1178	AV03913-AS	u*Af*gcuaAfaacAfgaCfaAfauc*c*c	1424
AV03914	AV03914-SS	c*g*auuuguCfuGfuUfuaugcu*u*a	1179	AV03914-AS	u*Af*agcaUfaaaCfagAfcAfaau*c*g	1425
AV03915	AV03915-SS	c*a*uuugucUfgUfuUfaugcuu*g*a	1180	AV03915-AS	u*Cf*aagcAfuaaAfcaGfaCfaaa*u*g	1426
AV03916	AV03916-SS	g*u*uugucuGfuUfuAfugcuug*g*a	1181	AV03916-AS	u*Cf*caAfg(cUNA)auaAfacAfgAfcaa*a*c	1427
AV03917	AV03917-SS	g*u*ugucugUfuUfaUfgcuugg*a*a	1182	AV03917-AS	u*Uf*ccAfa(gUNA)cauAfaaCfaGfaca*a*c	1428
AV03918	AV03918-SS	g*u*gucuguUfuAfuGfcuugga*u*a	1183	AV03918-AS	u*Af*uccaAfgcaUfaaAfcAfgac*a*c	1429

AV03919	AV03919-SS	g*g*ucuguuUfaUfgCfuuggau*u*a	1184	AV03919-AS	u*Af*auccAfagcAfuaAfaCfaga*c*c	1430
AV03920	AV03920-SS	c*u*cuguuuAfuGfcUfuggauu*c*a	1185	AV03920-AS	u*Gf*aaucCfaagCfauAfaAfcag*a*g	1431
AV03921	AV03921-SS	g*c*uguuuaUfgCfuUfggauuc*a*a	1186	AV03921-AS	u*Uf*gaauCfcaaGfcaUfaAfaca*g*c	1432
AV03922	AV03922-SS	g*u*guuuauGfcUfuGfgauuca*c*a	1187	AV03922-AS	u*Gf*ugaaUfccAfgcAfuAfaac*a*c	1433
AV03923	AV03923-SS	g*u*augcuuGfgAfuUfcaccag*a*a	1188	AV03923-AS	u*Uf*cuGfg(uUNA)gaaUfccAfaGfcu*a*c	1434
AV03924	AV03924-SS	g*g*gauucaCfcAfgAfgugacu*a*a	1189	AV03924-AS	u*Uf*agucAfcucUfggUfgAfauc*c*c	1435
AV03925	AV03925-SS	c*g*auucacCfaGfaGfugacua*u*a	1190	AV03925-AS	u*Af*uaguCfacuCfugGfuGfaau*c*g	1436
AV03926	AV03926-SS	c*a*uucaccAfgAfgUfgacuau*g*a	1191	AV03926-AS	u*Cf*auagUfcacUfcuGfgUfgaa*u*g	1437
AV03927	AV03927-SS	g*a*aaaaaAfaGfgAfcgcaug*u*a	1192	AV03927-AS	u*Af*caUfg(cUNA)gucCfuUfuUfuuu*u*c	1438
AV03928	AV03928-SS	g*a*aaaaaAfgGfaCfcaugu*a*a	1193	AV03928-AS	u*Uf*acauGfcguCfcuUfuUfuuu*u*c	1439
AV03929	AV03929-SS	g*a*aaaaaGfgAfcGfcaugua*u*a	1194	AV03929-AS	u*Af*uacaUfgcgUfccUfuUfuuu*u*c	1440
AV03930	AV03930-SS	g*a*aaaaagGfaCfgCfauguau*c*a	1195	AV03930-AS	u*Gf*auacAfugcGfucCfuUfuuu*u*c	1441
AV03931	AV03931-SS	g*a*aaaggaCfgCfaUfguaucu*u*a	1196	AV03931-AS	u*Af*agauAfcuGfcgUfcCfuuu*u*c	1442
AV03932	AV03932-SS	g*a*aaggacGfcAfuGfuaucuu*g*a	1197	AV03932-AS	u*Cf*aagaUfacaUfgcGfuCfcuu*u*c	1443
AV03933	AV03933-SS	g*a*aggacgCfaUfgUfaucuu*g*a	1198	AV03933-AS	u*Uf*caagAfuacAfugCfgUfccu*u*c	1444

AV03934	AV03934-SS	g*a*ggacgcAfuGfuAfucuuga*a*a	1199	AV03934-AS	u*Uf*ucaaGfauaCfauGfcGfucc*u*c	1445
AV03935	AV03935-SS	c*g*acgcGfuAfuCfuugaaa*u*a	1200	AV03935-AS	u*Af*uuucAfagaUfacAfuGfcgu*c*g	1446
AV03936	AV03936-SS	g*c*aacuccUfgCfaUfcacaag*a*a	1201	AV03936-AS	u*Uf*cuugUfgauGfcaGfgAfguu*g*c	1447
AV03937	AV03937-SS	c*a*cucacuUfuAfuCfaauagu*u*a	1202	AV03937-AS	u*Af*acuaUfugaUfaaAfgUfgag*u*g	1448
AV03938	AV03938-SS	g*c*ucacuuUfaUfcAfauagu*u*c*a	1203	AV03938-AS	u*Gf*aacuAfuugAfuaAfaGfuga*g*c	1449
AV03939	AV03939-SS	g*u*cacuuuAfuCfaAfuaguuc*c*a	1204	AV03939-AS	u*Gf*gaacUfauuGfauAfaAfgug*a*c	1450
AV03940	AV03940-SS	g*c*acuuuaUfcAfaUfaguucc*a*a	1205	AV03940-AS	u*Uf*ggaaCfuauUfgaUfaAfagu*g*c	1451
AV03941	AV03941-SS	g*c*uuuauCfaUfaGfuuccau*u*a	1206	AV03941-AS	u*Af*auggAfacuAfuGfaUfaa*g*c	1452
AV03942	AV03942-SS	g*u*uaucAfaUfaGfuUfccauu*a*a	1207	AV03942-AS	u*Uf*aaauGfgaaCfuaUfuGfaua*a*c	1453
AV03943	AV03943-SS	g*u*aucaauAfgUfuCfcauuu*a*a	1208	AV03943-AS	u*Uf*uaaaUfggaAfcuAfuUfgau*a*c	1454
AV03944	AV03944-SS	g*a*auaguuCfcAfuUfuaaaau*g*a	1209	AV03944-AS	u*Cf*aaauUfaaaUfggAfaCfuau*u*c	1455
AV03945	AV03945-SS	g*a*aguucCfaUfuUfaaaug*a*a	1210	AV03945-AS	u*Uf*caauUfuuaAfugGfaAfcua*u*c	1456
AV03946	AV03946-SS	g*u*aguuccAfuUfuAfaauuga*c*a	1211	AV03946-AS	u*Gf*ucaaUfuuaAfauGfgAfacu*a*c	1457
AV03947	AV03947-SS	c*u*uccauuUfaAfaUfugacuu*c*a	1212	AV03947-AS	u*Gf*aaguCfaauUfuaAfaUfgga*a*g	1458
AV03948	AV03948-SS	g*a*cuugcaAfgUfcCfcaugau*u*a	1213	AV03948-AS	u*Af*aucaUfgggAfcuUfgCfaag*u*c	1459

AV03949	AV03949-SS	g*u*ugcaagUfcCfcAfugauuu*c*a	1214	AV03949-AS	u*Gf*aaauCfaugGfgaCfuUfgca*a*c	1460
AV03950	AV03950-SS	g*u*gcaaguCfcCfaUfgauuuc*u*a	1215	AV03950-AS	u*Af*gaaaUfcuGfggAfcUfugc*a*c	1461
AV03951	AV03951-SS	g*g*caagucCfcAfuGfauuucu*u*a	1216	AV03951-AS	u*Af*agaaAfucaUfggGfaCfuug*c*c	1462
AV03952	AV03952-SS	g*g*aaaUCAfcUfuAfgcuuag*c*a	1217	AV03952-AS	u*Gf*cuAfa(gUNA)cuaAfgaUfgAfuuu*c*c	1463
AV03953	AV03953-SS	g*a*aucaucUfuAfgCfuagcu*u*a	1218	AV03953-AS	u*Af*agcuAfagcUfaaGfaUfgau*u*c	1464
AV03954	AV03954-SS	g*g*ucuauaUfaGfuGfuauugu*g*a	1219	AV03954-AS	u*Cf*acaaUfacaCfuaUfaUfaga*c*c	1465
AV03955	AV03955-SS	g*a*augauuUfaCfaCfugacug*u*a	1220	AV03955-AS	u*Af*caguCfaguGfuaAfaUfcu*u*c	1466
AV03956	AV03956-SS	g*u*gauuuaCfaCfuGfacuguu*g*a	1221	AV03956-AS	u*Cf*aacaGfucaGfugUfaAfauc*a*c	1467
AV03957	AV03957-SS	g*u*uacacuGfaCfuGfuugcug*u*a	1222	AV03957-AS	u*Af*cagcAfacaGfucAfgUfgua*a*c	1468
AV03958	AV03958-SS	g*u*acacugAfcUfgUfugcugu*a*a	1223	AV03958-AS	u*Uf*acagCfaacAfguCfaGfugu*a*c	1469
AV03959	AV03959-SS	g*a*cacugaCfuGfuUfgcugua*a*a	1224	AV03959-AS	u*Uf*uacaGfcaaCfagUfcAfgug*u*c	1470
AV03960	AV03960-SS	g*c*acugacUfgUfuGfcuguaa*a*a	1225	AV03960-AS	u*Uf*uuacAfgcaAfcaGfuCfagu*g*c	1471
AV03961	AV03961-SS	g*c*ugacugUfuGfcUfguaaaa*g*a	1226	AV03961-AS	u*Cf*uuuuAfcagCfaaCfaGfuca*g*c	1472
AV03962	AV03962-SS	g*u*gacuguUfgCfuGfuaaaag*u*a	1227	AV03962-AS	u*Af*cuuuUfacaGfcaAfcAfguc*a*c	1473
AV03963	AV03963-SS	g*g*acuguuGfcUfgUfaaaagu*g*a	1228	AV03963-AS	u*Cf*acuuUfuacAfgcAfaCfagu*c*c	1474

AV03964	AV03964-SS	c*a*cuguugCfuGfuAfaagug*a*a	1229	AV03964-AS	u*Uf*cacuUfuuaCfagCfaAfcag*u*g	1475
AV03965	AV03965-SS	g*c*uguugcUfgUfaAfaaguga*a*a	1230	AV03965-AS	u*Uf*ucacUfuuuAfcaGfcAfaca*g*c	1476
AV03966	AV03966-SS	g*u*guugcuGfuAfaAfagugaa*u*a	1231	AV03966-AS	u*Af*uucaCfuuuUfacAfgCfaac*a*c	1477
AV03967	AV03967-SS	c*c*uguaaaAfgUfgAfaauugg*a*a	1232	AV03967-AS	u*Uf*ccaaAfuucAfcuUfuUfaca*g*g	1478
AV03968	AV03968-SS	g*u*guaaaaGfuGfaAfuugga*a*a	1233	AV03968-AS	u*Uf*uccaAfaauCfacUfuUfuac*a*c	1479
AV03969	AV03969-SS	g*g*ugaauuUfgGfaAfaaaag*u*a	1234	AV03969-AS	u*Af*cuuuAfuuuCfcaAfaUfuca*c*c	1480
AV03970	AV03970-SS	g*g*gaaauaAfaGfuUfaauacu*c*a	1235	AV03970-AS	u*Gf*aguaAfuaaCfuUfaUfuuc*c*c	1481
AV03971	AV03971-SS	c*g*aaauaaAfgUfuAfuuacuc*u*a	1236	AV03971-AS	u*Af*gaguAfauaAfcuUfuAfuuu*c*g	1482
AV03972	AV03972-SS	g*a*uaaaguUfaUfuAfcucuga*u*a	1237	AV03972-AS	u*Af*ucagAfguaAfuaAfcUfuua*u*c	1483
AV03973	AV03973-SS	g*a*aguauuUfaCfuCfugauua*a*a	1238	AV03973-AS	u*Uf*uaauCfagaGfuaAfuAfacu*u*c	1484
AV07298	AV07298-SS	g*c*gcugggAfcGfuAfcggguu*g*a	1847	AV07298-AS	u*Cf*aaCfc(cUNA)guacGfuCfcCfagc*g*c	1992
AV07299	AV07299-SS	c*g*acguacGfgGfuUfggggga*c*a	1848	AV07299-AS	u*Gf*ucCfc(cUNA)caacCfcGfuAfcgu*c*g	1993
AV07300	AV07300-SS	c*a*cguacGfgUfuGfggggac*a*a	1849	AV07300-AS	u*Uf*guCfc(cUNA)ccaaCfcCfgUfacg*u*g	1994
AV07301	AV07301-SS	g*g*aggcugAfcCfuUfccagag*c*a	1850	AV07301-AS	u*Gf*cuCfu(gUNA)gaagGfuCfaGfccu*c*c	1995
AV07302	AV07302-SS	c*a*ggcugaCfcUfuCfcagagc*c*a	1851	AV07302-AS	u*Gf*gcUfc(uUNA)ggaaGfgUfcAfgcc*u*g	1996

AV07303	AV07303-SS	g*a*gccugcUfgCfuGfcuccgc*g*a	1852	AV07303-AS	u*Cf*gcGfg(aUNA)gcagCfaGfcAfggc*u*c	1997
AV07304	AV07304-SS	c*g*ucaguaAfaAfgCfaaagac*g*a	1853	AV07304-AS	u*Cf*guCfu(uUNA)ugcuUfuUfaCfuga*c*g	1998
AV07305	AV07305-SS	c*u*caguaaAfaGfcAfaagacg*g*a	1854	AV07305-AS	u*Cf*cgUfc(uUNA)uugcUfuUfuAfcug*a*g	1999
AV07306	AV07306-SS	g*a*guaaaaGfcAfaAfgacggg*a*a	1855	AV07306-AS	u*Uf*ccCfg(uUNA)cuuuGfcUfuUfuac*u*c	2000
AV07307	AV07307-SS	g*c*uggaagCfgAfuGfacaaaa*a*a	1856	AV07307-AS	u*Uf*uuUfu(gUNA)ucauCfgCfuUfcca*g*c	2001
AV07308	AV07308-SS	g*u*ggaagcGfaUfgAfcaaaaa*a*a	1857	AV07308-AS	u*Uf*uuUfu(uUNA)gucaUfcGfcUfucc*a*c	2002
AV07309	AV07309-SS	c*a*agcgauGfaCfaAfaaaagc*c*a	1858	AV07309-AS	u*Gf*gcUfu(uUNA)uuugUfcAfuCfvcu*u*g	2003
AV07310	AV07310-SS	c*c*gaugacAfaAfaAfaagccaa*g*a	1859	AV07310-AS	u*Cf*uuGfg(cUNA)uuuuUfuGfuCfauc*g*g	2004
AV07311	AV07311-SS	g*c*cuugaaAfaAfuAfggccuu*g*a	1860	AV07311-AS	u*Cf*aaGfg(cUNA)cuauUfuUfuCfaag*g*c	2005
AV07312	AV07312-SS	g*c*uugaaaAfaUfaGfgccuug*c*a	1861	AV07312-AS	u*Gf*caAfg(gUNA)ccuaUfuUfuUfcaa*g*c	2006
AV07313	AV07313-SS	g*u*ugaaaaAfuAfgGfccuugc*c*a	1862	AV07313-AS	u*Gf*gcAfa(gUNA)gccuAfuUfuUfuca*a*c	2007
AV07314	AV07314-SS	g*a*ggccuuGfcCfuUfagcccc*a*a	1863	AV07314-AS	u*Uf*ggGfg(cUNA)uaagGfcAfaGfgcc*u*c	2008
AV07315	AV07315-SS	c*c*aaauagUfcUfaCfaaacca*g*a	1864	AV07315-AS	u*Cf*ugGfu(uUNA)uguaGfaCfuAfuuu*g*g	2009
AV07316	AV07316-SS	g*a*aauguCfuAfcAfaaccag*u*a	1865	AV07316-AS	u*Af*cuGfg(uUNA)uuguAfgAfcUfauu*u*c	2010
AV07317	AV07317-SS	g*a*gucuacAfaAfcCfaguuga*c*a	1866	AV07317-AS	u*Gf*ucAfa(cUNA)ugguUfuGfuAfgac*u*c	2011

AV07318	AV07318-SS	c*u*cuacaaAfcCfaGfuugacc*u*a	1867	AV07318-AS	u*Af*ggUfc(aUNA)acugGfuUfuGfuag*a*g	2012
AV07319	AV07319-SS	g*a*caaaccAfgUfuGfaccuga*g*a	1868	AV07319-AS	u*Cf*ucAfg(gUNA)ucaacCfuGfgUfuug*u*c	2013
AV07320	AV07320-SS	g*a*accaguUfgAfcCfugagca*a*a	1869	AV07320-AS	u*Uf*ugCfu(cUNA)agguCfaAfcUfggu*u*c	2014
AV07321	AV07321-SS	g*c*caguugAfcCfuGfagcaag*g*a	1870	AV07321-AS	u*Cf*cuUfg(cUNA)ucagGfuCfaAfcug*g*c	2015
AV07322	AV07322-SS	g*c*ugagcaAfgGfuGfaccucc*a*a	1871	AV07322-AS	u*Uf*ggAfg(gUNA)ucacCfuUfgCfuca*g*c	2016
AV07323	AV07323-SS	g*a*aggugaCfcUfcCfaagugu*g*a	1872	AV07323-AS	u*Cf*acAfc(uUNA)uggaGfgUfcAfcu*u*c	2017
AV07324	AV07324-SS	c*a*ccuccaAfgUfgUfggcuca*u*a	1873	AV07324-AS	u*Af*ugAfg(cUNA)cacaCfuUfgGfagg*u*g	2018
AV07325	AV07325-SS	g*c*aaguguGfgCfuCfauuagg*c*a	1874	AV07325-AS	u*Gf*ccUfa(aUNA)ugagCfcAfcAfcu*u*c	2019
AV07326	AV07326-SS	g*a*guguggCfuCfaUfuaggca*a*a	1875	AV07326-AS	u*Uf*ugCfc(uUNA)aaugAfgCfcAfcac*u*c	2020
AV07327	AV07327-SS	g*g*uguggcUfcAfuUfaggcaa*c*a	1876	AV07327-AS	u*Gf*uuGfc(cUNA)uaauGfaGfcCfaca*c*c	2021
AV07328	AV07328-SS	g*u*cauuagGfcAfaCfauccau*c*a	1877	AV07328-AS	u*Gf*auGfg(aUNA)uguuGfcCfuAfaug*a*c	2022
AV07329	AV07329-SS	g*a*uuaggcAfaCfaUfccauca*u*a	1878	AV07329-AS	u*Af*ugAfu(gUNA)gaugUfuGfcCfuaa*u*c	2023
AV07330	AV07330-SS	g*a*ggcaacAfuCfcAfucuuaa*a*a	1879	AV07330-AS	u*Uf*uuAfu(gUNA)auggAfuGfuUfgcc*u*c	2024
AV07331	AV07331-SS	c*g*caacauCfcAfuCfauaaac*c*a	1880	AV07331-AS	u*Gf*guUfu(aUNA)ugauGfgAfuGfuug*c*g	2025
AV07332	AV07332-SS	g*a*acauccAfuCfaUfaaacca*g*a	1881	AV07332-AS	u*Cf*ugGfu(uUNA)uaugAfuGfgAfugu*u*c	2026

AV07333	AV07333-SS	g*c*auccauCfaUfaAfacagg*a*a	1882	AV07333-AS	u*Uf*ccUfg(gUNA)uuuaUfgAfuGfgau*g*c	2027
AV07334	AV07334-SS	g*c*caucauAfaAfcCfaggagg*u*a	1883	AV07334-AS	u*Af*ccUfc(cUNA)ugguUfuAfuGfaug*g*c	2028
AV07335	AV07335-SS	g*a*accaggAfgGfuGfgccagg*u*a	1884	AV07335-AS	u*Af*ccUfg(gUNA)ccacCfuCfcUfggu*u*c	2029
AV07336	AV07336-SS	c*c*caggugGfaAfgUfaaauc*u*a	1885	AV07336-AS	u*Af*gaUfu(uUNA)uacuUfcCfaCfcug*g*g	2030
AV07337	AV07337-SS	c*g*aaguaaAfaUfcUfgagaag*c*a	1886	AV07337-AS	u*Gf*cuUfc(uUNA)cagaUfuUfuAfcuu*c*g	2031
AV07338	AV07338-SS	g*g*uaaaauCfuGfaGfaagcuu*g*a	1887	AV07338-AS	u*Cf*aaGfc(uUNA)ucucAfgAfuUfuua*c*c	2032
AV07339	AV07339-SS	g*a*aaauCuGfaGfaAfgcuuga*c*a	1888	AV07339-AS	u*Gf*ucAfa(gUNA)cuucUfcAfgAfuuu*u*c	2033
AV07340	AV07340-SS	g*a*aaucugAfgAfaGfcuugac*u*a	1889	AV07340-AS	u*Af*guCfa(aUNA)gcuuCfuCfaGfauu*u*c	2034
AV07341	AV07341-SS	g*a*aucugaGfaAfgCfuugacu*u*a	1890	AV07341-AS	u*Af*agUfc(aUNA)agcuUfcUfcAfgau*u*c	2035
AV07342	AV07342-SS	g*a*ucugagAfaGfcUfugacuu*c*a	1891	AV07342-AS	u*Gf*aaGfu(cUNA)aagcUfuCfuCfaga*u*c	2036
AV07343	AV07343-SS	g*u*cugagaAfgCfuUfgacuuc*a*a	1892	AV07343-AS	u*Uf*gaAfg(uUNA)caagCfuUfcUfcag*a*c	2037
AV07344	AV07344-SS	g*g*agaagcUfuGfaCfuucaag*g*a	1893	AV07344-AS	u*Cf*cuUfg(aUNA)agucAfaGfcUfucu*c*c	2038
AV07345	AV07345-SS	c*a*gaagcuUfgAfcUfucaagg*a*a	1894	AV07345-AS	u*Uf*ccUfu(gUNA)aaguCfaAfgCfuuc*u*g	2039
AV07346	AV07346-SS	g*a*gcuugaCfuUfcAfggaca*g*a	1895	AV07346-AS	u*Cf*ugUfc(cUNA)uugaAfgUfcAfacg*u*c	2040
AV07347	AV07347-SS	g*g*cuugacUfuCfaAfggacag*a*a	1896	AV07347-AS	u*Uf*cuGfu(cUNA)cuugAfaGfuCfaag*c*c	2041

AV07348	AV07348-SS	c*c*uugacuUfcAfaGfgacaga*g*a	1897	AV07348-AS	u*Cf*ucUfg(uUNA)ccuuGfaAfgUfcaa*g*g	2042
AV07349	AV07349-SS	g*u*ugacuuCfaAfgGfacagag*u*a	1898	AV07349-AS	u*Af*cuCfu(gUNA)uccuUfgAfaGfuca*a*c	2043
AV07350	AV07350-SS	g*u*gacuucAfaGfgAfcagagu*c*a	1899	AV07350-AS	u*Gf*acUfc(uUNA)guccUfuGfaAfguc*a*c	2044
AV07351	AV07351-SS	c*a*cagaguCfcAfgUfcgaaga*u*a	1900	AV07351-AS	u*Af*ucUfu(cUNA)gacuGfgAfcUfcug*u*g	2045
AV07352	AV07352-SS	g*a*gaguccAfgUfcGfaagauu*g*a	1901	AV07352-AS	u*Cf*aaUfc(uUNA)ucgaCfuGfgAfcuc*u*c	2046
AV07353	AV07353-SS	g*c*agucgaAfgAfuUfgggucc*c*a	1902	AV07353-AS	u*Gf*ggAfc(cUNA)caauCfuUfcGfacu*g*c	2047
AV07354	AV07354-SS	g*a*gucgaaGfaUfuGfgguccc*u*a	1903	AV07354-AS	u*Af*ggGfa(cUNA)ccaaUfcUfuCfgac*u*c	2048
AV07355	AV07355-SS	g*g*aagauuGfgGfuCfccugga*c*a	1904	AV07355-AS	u*Gf*ucCfa(gUNA)ggacCfcAfaUfcuu*c*c	2049
AV07356	AV07356-SS	c*a*uuggguCfcCfuGfgacaau*a*a	1905	AV07356-AS	u*Uf*auUfg(uUNA)ccagGfgAfcCfcaa*u*g	2050
AV07357	AV07357-SS	c*g*gucccuGfgAfcAfauauca*c*a	1906	AV07357-AS	u*Gf*ugAfu(aUNA)uuguCfcAfgGfgac*c*g	2051
AV07358	AV07358-SS	g*c*ccuggaCfaAfuAfucacc*c*a	1907	AV07358-AS	u*Uf*ggGfu(gUNA)auauUfgUfcCfagg*g*c	2052
AV07359	AV07359-SS	g*c*uggacaAfuAfuCfaccac*g*a	1908	AV07359-AS	u*Cf*guGfg(gUNA)ugauAfuUfgUfcca*g*c	2053
AV07360	AV07360-SS	g*u*ggacaaUfaUfcAfcccacg*u*a	1909	AV07360-AS	u*Af*cgUfg(gUNA)gugaUfaUfuGfucc*a*c	2054
AV07361	AV07361-SS	g*a*aaaaagAfaUfaUfugacc*c*a	1910	AV07361-AS	u*Cf*ggGfu(cUNA)auuaUfuCfuUfuuu*u*c	2055
AV07362	AV07362-SS	g*a*aaaagaAfuAfaUfgacccg*g*a	1911	AV07362-AS	u*Cf*cgGfg(uUNA)cauuAfuUfcUfuuu*u*c	2056

AV07363	AV07363-SS	g*a*aaagaaUfaAfuGfaccgg*c*a	1912	AV07363-AS	u*Gf*ccGfg(gUNA)ucauUfaUfuCfuuu*u*c	2057
AV07364	AV07364-SS	c*g*cccccgCfcCfuCfugcccc*c*a	1913	AV07364-AS	u*Gf*ggGfg(cUNA)agagGfgCfgGfggg*c*g	2058
AV07365	AV07365-SS	g*c*cccgccCfuCfuGfccccca*g*a	1914	AV07365-AS	u*Cf*ugGfg(gUNA)gcagAfgGfgCfggg*g*c	2059
AV07366	AV07366-SS	g*u*gccccAfgCfuGfcuccuc*g*a	1915	AV07366-AS	u*Cf*gaGfg(aUNA)gcagCfuGfgGfggc*a*c	2060
AV07367	AV07367-SS	g*c*cccagcUfgCfuCfcucgca*g*a	1916	AV07367-AS	u*Cf*ugCfg(aUNA)ggagCfaGfcUfggg*g*c	2061
AV07368	AV07368-SS	c*c*uccucgCfaGfuUfcgguua*a*a	1917	AV07368-AS	u*Uf*uaAfc(cUNA)gaacUfgCfgAfgga*g*g	2062
AV07369	AV07369-SS	g*u*cgcaguUfcGfgUfuaauug*g*a	1918	AV07369-AS	u*Cf*caAfu(uUNA)aaccGfaAfcUfgcg*a*c	2063
AV07370	AV07370-SS	g*c*gcaguuCfgGfuUfaauugg*u*a	1919	AV07370-AS	u*Af*ccAfa(uUNA)uacCfgAfaCfugc*g*c	2064
AV07371	AV07371-SS	g*g*caguucGfgUfuAfaauuggu*u*a	1920	AV07371-AS	u*Af*accaAfuuaaCfcGfaAfcug*c*c	2065
AV07372	AV07372-SS	c*c*aguucgGfuUfaAfuugguu*a*a	1921	AV07372-AS	u*Uf*aaccAfaauaAfcCfgAfacu*g*g	2066
AV07373	AV07373-SS	g*a*guucggUfuAfaUfugguua*a*a	1922	AV07373-AS	u*Uf*uaacCfaauuAfaCfcGfaac*u*c	2067
AV07374	AV07374-SS	g*g*uucgguUfaAfuUfgguuaa*u*a	1923	AV07374-AS	u*Af*uuaaCfcaauUfaAfcCfgaa*c*c	2068
AV07375	AV07375-SS	c*u*ucgguuAfaUfuGfguuauu*c*a	1924	AV07375-AS	u*Gf*auuaAfccaaUfuAfaCfcga*a*g	2069
AV07376	AV07376-SS	g*u*cgguuAfuUfgGfuuauc*a*a	1925	AV07376-AS	u*Uf*gaUfu(aUNA)accaAfuUfaAfccg*a*c	2070
AV07377	AV07377-SS	g*c*gguuuaUfuGfgUfuaauca*c*a	1926	AV07377-AS	u*Gf*ugauUfaaccAfaUfuAfacc*g*c	2071

AV07378	AV07378-SS	g*g*guuauUfgGfuUfaucac*u*a	1927	AV07378-AS	u*Af*guGfa(uUNA)uaacCfaAfuUfaac*c*c	2072
AV07379	AV07379-SS	c*g*uuaauUGfgUfuAfaucacu*u*a	1928	AV07379-AS	u*Af*agugAfuuaaCfcAfaUfuua*c*g	2073
AV07380	AV07380-SS	c*u*uaauugGfuUfaAfucacuu*a*a	1929	AV07380-AS	u*Uf*aaGfu(gUNA)auuaAfcCfaAfuua*a*g	2074
AV07381	AV07381-SS	g*u*aauggUfuAfaUfcacuu*a*a	1930	AV07381-AS	u*Uf*uaAfg(uUNA)gauuAfaCfcAfauu*a*c	2075
AV07382	AV07382-SS	g*u*ugguuaAfuCfaCfuuaacc*u*a	1931	AV07382-AS	u*Af*ggUfu(aUNA)agugAfuUfaAfcca*a*c	2076
AV07383	AV07383-SS	g*g*guuauCfaCfuUfaaccug*c*a	1932	AV07383-AS	u*Gf*caGfg(uUNA)uaagUfgAfuUfaac*c*c	2077
AV07384	AV07384-SS	c*g*uuaaucAfcUfuAfaccugc*u*a	1933	AV07384-AS	u*Af*gcAfg(gUNA)uuuaGfuGfaUfuua*c*g	2078
AV07385	AV07385-SS	c*u*uaaucaCfuUfaAfccugcu*u*a	1934	AV07385-AS	u*Af*agCfa(gUNA)guuaAfgUfgAfuua*a*g	2079
AV07386	AV07386-SS	g*u*aaucacUfuAfaCfcugcuu*u*a	1935	AV07386-AS	u*Af*aaGfc(aUNA)gguuAfaGfuGfauu*a*c	2080
AV07387	AV07387-SS	g*a*cuaaacCfuGfcUfuuguc*a*a	1936	AV07387-AS	u*Uf*gaCfa(aUNA)aagcAfgGfuUfaag*u*c	2081
AV07388	AV07388-SS	g*c*uuaaccUfgCfuUfuuguca*c*a	1937	AV07388-AS	u*Gf*ugAfc(aUNA)aaagCfaGfgUfuua*g*c	2082
AV07389	AV07389-SS	g*u*uaaccUGfcUfuUfugucac*u*a	1938	AV07389-AS	u*Af*gugaCfaaaaGfcAfgGfuua*a*c	2083
AV07390	AV07390-SS	g*u*aaccugCfuUfuUfgucacu*c*a	1939	AV07390-AS	u*Gf*agUfg(aUNA)caaaAfgCfaGfguu*a*c	2084
AV07391	AV07391-SS	g*a*accugcUfuUfuGfucacuc*g*a	1940	AV07391-AS	u*Cf*gaGfu(gUNA)acaaAfaGfcAfggu*u*c	2085
AV07392	AV07392-SS	g*c*cugcuuUfuGfuCfacucgg*c*a	1941	AV07392-AS	u*Gf*ccGfa(gUNA)ugacAfaAfaGfcag*g*c	2086

AV07393	AV07393-SS	g*u*gcuuuuGfuCfaCfucggcu*u*a	1942	AV07393-AS	u*Af*agCfc(gUNA)agugAfcAfaAfagc*a*c	2087
AV07394	AV07394-SS	g*g*cuuuugUfcAfcUfcggcuu*u*a	1943	AV07394-AS	u*Af*aaGfc(cUNA)gaguGfaCfaAfaag*c*c	2088
AV07395	AV07395-SS	c*c*uuuuguCfaCfuCfggcuu*u*a	1944	AV07395-AS	u*Cf*aaAfg(cUNA)cgagUfgAfcAfaaa*g*g	2089
AV07396	AV07396-SS	g*g*ucacucGfgCfuUfuggcuc*g*a	1945	AV07396-AS	u*Cf*gaGfc(cUNA)aaagCfcGfaGfuga*c*c	2090
AV07397	AV07397-SS	c*u*cacucgGfcUfuUfggcucg*g*a	1946	AV07397-AS	u*Cf*cgAfg(cUNA)caaaGfcCfGAfgug*a*g	2091
AV07398	AV07398-SS	g*u*uuggcuCfGfgAfcuucaa*a*a	1947	AV07398-AS	u*Uf*uuGfa(aUNA)guccCfGAfgCfcaa*a*c	2092
AV07399	AV07399-SS	g*g*gcucggGfaCfuUfcaaaau*c*a	1948	AV07399-AS	u*Gf*auUfu(uUNA)gaagUfcCfcGfagc*c*c	2093
AV07400	AV07400-SS	c*c*ucgggaCfuUfcAfaaauca*g*a	1949	AV07400-AS	u*Cf*ugAfu(uUNA)uugaAfgUfcCfca*g*g	2094
AV07401	AV07401-SS	g*g*ggacuuCfaAfaAfucagug*a*a	1950	AV07401-AS	u*Uf*caCfu(gUNA)auuuUfgAfaGfucc*c*c	2095
AV07402	AV07402-SS	c*g*gacuucAfaAfaUfcaguga*u*a	1951	AV07402-AS	u*Af*ucAfc(uUNA)gauuUfuGfaAfguc*c*g	2096
AV07403	AV07403-SS	g*c*uucaaaAfuCfaGfugaugg*g*a	1952	AV07403-AS	u*Cf*ccAfu(cUNA)acugAfuUfuUfgaa*g*c	2097
AV07404	AV07404-SS	g*u*ucaaaaUfcAfgUfgauggg*a*a	1953	AV07404-AS	u*Uf*ccCfa(uUNA)cacuGfaUfuUfuga*a*c	2098
AV07405	AV07405-SS	g*u*caaaauCfaGfuGfauggga*g*a	1954	AV07405-AS	u*Cf*ucCfc(aUNA)ucacUfgAfuUfuug*a*c	2099
AV07406	AV07406-SS	g*a*aaaucaGfuGfaUfgggagu*a*a	1955	AV07406-AS	u*Uf*acUfc(cUNA)caucAfcUfgAfuuu*u*c	2100
AV07407	AV07407-SS	g*a*aaucagUfgAfuGfggagua*a*a	1956	AV07407-AS	u*Uf*uacuCfccauCfaCfuGfauu*u*c	2101

AV07408	AV07408-SS	g*a*aucaguGfaUfgGfgaguaa*g*a	1957	AV07408-AS	u*Cf*uuAfc(uUNA)cccaUfcAfcUfgau*u*c	2102
AV07409	AV07409-SS	g*a*ucagugAfuGfgGfaguaag*a*a	1958	AV07409-AS	u*Uf*cuuaCfucccAfuCfaCfuga*u*c	2103
AV07410	AV07410-SS	g*u*cagugaUfgGfgAfguaaga*g*a	1959	AV07410-AS	u*Cf*ucUfu(aUNA)cuccCfaUfcAfcug*a*c	2104
AV07411	AV07411-SS	g*a*gugaugGfgAfgUfaagagc*a*a	1960	AV07411-AS	u*Uf*gcUfc(uUNA)uacuCfcCfaUfcac*u*c	2105
AV07412	AV07412-SS	g*g*ugauggGfaGfuAfgagca*a*a	1961	AV07412-AS	u*Uf*ugCfu(cUNA)uuacUfcCfcAfuca*c*c	2106
AV07413	AV07413-SS	c*u*gaugggAfgUfaAfgagcaa*a*a	1962	AV07413-AS	u*Uf*uuGfc(uUNA)cuuaCfuCfcCfauc*a*g	2107
AV07414	AV07414-SS	g*g*augggaGfuAfaGfagcaaa*u*a	1963	AV07414-AS	u*Af*uuUfg(cUNA)ucuuAfcUfcCfcau*c*c	2108
AV07415	AV07415-SS	c*a*ugggagUfaAfgAfgcaauu*u*a	1964	AV07415-AS	u*Af*auUfu(gUNA)cucuUfaCfuCfcca*u*g	2109
AV07416	AV07416-SS	g*u*gggaguAfaGfaGfcaauu*u*a	1965	AV07416-AS	u*Af*aaUfu(uUNA)gcucUfuAfcUfccc*a*c	2110
AV07417	AV07417-SS	g*g*ggaguaAfgAfgCfaaauuu*c*a	1966	AV07417-AS	u*Gf*aaauUfugcuCfuUfaCfucc*c*c	2111
AV07418	AV07418-SS	c*g*gaguaaGfaGfcAfaauuuc*a*a	1967	AV07418-AS	u*Uf*gaAfa(uUNA)uugcUfcUfuAfcuc*c*g	2112
AV07419	AV07419-SS	c*g*aguaagAfgCfaAfaauuca*u*a	1968	AV07419-AS	u*Af*ugaaAfuugCfuCfuUfacu*c*g	2113
AV07420	AV07420-SS	c*a*guaagaGfcAfaAfuuucau*c*a	1969	AV07420-AS	u*Gf*auGfa(aUNA)auuuGfcUfcUfuac*u*g	2114
AV07421	AV07421-SS	g*g*uaagagCfaAfaUfuucau*c*a	1970	AV07421-AS	u*Af*gaUfg(aUNA)aaauUfgCfuCfuua*c*c	2115
AV07422	AV07422-SS	c*u*aagagcAfaAfuUfucaucu*u*a	1971	AV07422-AS	u*Af*agAfu(gUNA)aaauUfuGfcUfcuu*a*g	2116

AV07423	AV07423-SS	g*u*uucaucUfuUfcCfaauug*a*a	1972	AV07423-AS	u*Uf*caAfu(uUNA)uggaAfaGfaUfgaa*a*c	2117
AV07424	AV07424-SS	g*u*cuuuccAfaAfuUfgauggg*u*a	1973	AV07424-AS	u*Af*ccCfa(uUNA)caauUfuGfgAfaag*a*c	2118
AV07425	AV07425-SS	g*c*uuuccaAfaUfuGfaugggg*u*a	1974	AV07425-AS	u*Cf*acCfc(aUNA)ucauUfuUfgGfaaa*g*c	2119
AV07426	AV07426-SS	g*u*uuccaaAfuUfgAfugggug*g*a	1975	AV07426-AS	u*Cf*caCfc(cUNA)aucaAfuUfuGfgaa*a*c	2120
AV07427	AV07427-SS	g*u*ccaaauUfgAfuGfgguggg*c*a	1976	AV07427-AS	u*Gf*ccCfa(cUNA)ccauCfaAfuUfugg*a*c	2121
AV07428	AV07428-SS	g*a*auugauGfgGfuGfggcuag*u*a	1977	AV07428-AS	u*Af*cuAfg(cUNA)ccacCfcAfuCfaau*u*c	2122
AV07429	AV07429-SS	g*a*uugaugGfgUfgGfgcuagu*a*a	1978	AV07429-AS	u*Uf*acUfa(gUNA)cccaCfcCfaUfcaa*u*c	2123
AV07430	AV07430-SS	g*u*ugauggGfuGfgGfcuagua*a*a	1979	AV07430-AS	u*Uf*uaCfu(aUNA)gcccAfcCfcAfuca*a*c	2124
AV07431	AV07431-SS	g*u*gaugggUfgGfgCfuaguaa*u*a	1980	AV07431-AS	u*Af*uuAfc(uUNA)agccCfaCfcCfauc*a*c	2125
AV07432	AV07432-SS	c*a*ugggugGfgCfuAfguaaua*a*a	1981	AV07432-AS	u*Uf*uauuAfcuagCfcCfaCfcca*u*g	2126
AV07433	AV07433-SS	g*u*ggguggGfcUfaGfuaauaa*a*a	1982	AV07433-AS	u*Uf*uuAfu(uUNA)acuaGfcCfcAfccc*a*c	2127
AV07434	AV07434-SS	g*u*aguaauAfaAfaUfauuuaa*a*a	1983	AV07434-AS	u*Uf*uuAfa(aUNA)uauuUfuAfuUfacu*a*c	2128
AV07435	AV07435-SS	g*a*guaauaAfaAfuAfuuuaaa*a*a	1984	AV07435-AS	u*Uf*uuuaAfauauUfuUfaUfuac*u*c	2129
AV07436	AV07436-SS	g*g*uaauaaAfaUfaUfuuaaaa*a*a	1985	AV07436-AS	u*Uf*uuUfu(aUNA)aaauUfuUfuAfuua*c*c	2130
AV07437	AV07437-SS	c*u*aauaaaAfuAfuUfuaaaaa*a*a	1986	AV07437-AS	u*Uf*uuuuUfaaaAfuUfuUfaau*a*g	2131

AV07438	AV07438-SS	g*a*auaaaaUfaUfuUfaaaaa*a*a	1987	AV07438-AS	u*Uf*uuuuUfuaaaUfaUfuUfuau*u*c	2132
AV07439	AV07439-SS	g*a*uaaaauAfuUfuAfaaaaa*a*a	1988	AV07439-AS	u*Uf*uuuuUfuuaaAfuAfuUfuua*u*c	2133
AV07440	AV07440-SS	g*u*aaaauaUfuUfaAfaaaaa*a*a	1989	AV07440-AS	u*Uf*uuUfu(uUNA)uuuaAfaUfaUfuuu*a*c	2134
AV07441	AV07441-SS	g*u*aaaaaaAfaAfcAfucaaaa*a*a	1990	AV07441-AS	u*Uf*uuUfg(aUNA)auguUfuUfuUfuuu*a*c	2135
AV07442	AV07442-SS	g*a*aaaaaaAfaCfaUfucaaaa*a*a	1991	AV07442-AS	u*Uf*uuUfu(gUNA)aaugUfuUfuUfuuu*u*c	2136

La Tabla 3 muestra determinadas secuencias de cadena antisentido y cadena sentido del agente de ARNi de la MAPT modificadas químicamente de la invención. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, los agentes de ARNi que se muestran en la Tabla 3 se administran a una célula y/o un sujeto. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, se administra a un sujeto un agente de ARNi con una secuencia de polinucleótidos que se muestra en la Tabla 3. En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNi administrado a un sujeto comprende una cadena doble identificada en una fila en la Tabla 3, columna uno, e incluye las modificaciones de secuencia y/o el compuesto de suministro que se muestran en las secuencias de cadena sentido y antisentido en la misma fila en la Tabla 3, columnas tres y seis, respectivamente. Las secuencias se utilizaron en determinados estudios con pruebas *in vivo* descritos en otra parte del presente documento. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, una secuencia que se muestra en la Tabla 3 puede unirse a (también se denomina “conjugada con” en el presente documento) un compuesto para el suministro, un ejemplo no limitante del cual es un compuesto que contiene GalNAc, con un compuesto de suministro identificado en la Tabla 3 como “GLX-n” en las cadenas sentido de la columna tres. Tal como se utiliza en el presente documento, “GLX-n” se utiliza para representar un compuesto de suministro “GLS-n*” o “GLO-n” (“X” puede ser “S” u “O”), y GLX-0 puede ser cualquiera de los compuestos de suministro “GLS-n*” y “GLO-n” que se pueden unir al extremo 3'-terminal del oligonucleótido durante la síntesis. Tal como se utiliza en el presente documento y se muestra en la Tabla 3, “GLX-n” se utiliza para indicar que el compuesto que contiene GalNAc unido es cualquiera de los compuestos GLS-1*, GLS-2*, GLS-3*, GLS-4*, GLS-5*, GLS-6*, GLS-7*, GLS-8*, GLS-9*, GLS-10*, GLS-11*, GLS-12*, GLS-13*, GLS-14*, GLS-15*,

- GLS-16*, GLO-1, GLO-2, GLO-3, GLO-4, GLO-5, GLO-6, GLO-7, GLO-8, GLO-9, GLO-10, GLO-11, GLO-12, GLO-13, GLO-14, GLO-15 y GLO-16, cuya estructura se proporciona en otra parte del presente documento. Un experto en la materia podrá preparar y utilizar un compuesto de ARNbc de la invención, en donde el compuesto de suministro unido es uno de GLS-1*, GLS-2*, GLS-3*, GLS-4*, GLS-5*, GLS-6*, GLS-7*, GLS-8*, GLS-9*, GLS-10*, GLS-11*, GLS-12*, GLS-13*, GLS-14*, GLS-15*, GLS-16*, GLO-1, GLO-2, GLO-3, GLO-4, GLO-5, GLO-6, GLO-7, GLO-8, GLO-9, GLO-10, GLO-11, GLO-12, GLO-13, GLO-14, GLO-15 y GLO-16. La columna uno de la Tabla 3 proporciona una cadena doble AD n.º asignado a la cadena doble de las secuencias sentido y antisentido en esa fila de la tabla. Por ejemplo, la cadena doble AD n.º AD01093 es la cadena doble de la cadena sentido SEC ID N.º: 1393 y la cadena antisentido SEC ID N.º: 1441. Cada línea de la Tabla 3 proporciona una cadena sentido y una cadena antisentido, y describe la cadena doble de las cadenas sentido y antisentido que se muestran. La “cadena sentido n.º SS” en la columna dos de la Tabla 3 es el identificador asignado para la secuencia sentido (incluidas las modificaciones) que se muestra en la columna 3 de la misma fila. La “cadena antisentido n.º AS” en la columna cinco de la Tabla 3 es el identificador asignado para la secuencia antisentido (incluidas las modificaciones) que se muestra en la columna seis. Se muestra un identificador para determinados compuestos “GLO-n” o “GLS-n*” que contienen GalNAc unido como GLS-5*, GLS-15* o GLX-0, y se entenderá que otro de los compuestos “GLO-n” o “GLS-n*” puede sustituir al compuesto que se muestra como GLO-0, y el compuesto resultante se incluye en una realización de un método y/o una composición de la invención.
- Tabla 3. Secuencias de cadena antisentido y cadena sentido del agente de ARNi de la MAPT modificado químicamente. Todas las secuencias se muestran en dirección 5' a 3'. Las secuencias se utilizaron en determinados estudios con pruebas *in vivo* descritos en otra parte del presente documento. Una molécula de suministro utilizada en los estudios *in vivo* se indica como “GLO-n” o “GLS-n*” en el extremo 3'-terminal o 5'-terminal de cada cadena sentido.

Cadena doble AD n.º	Cadena sentido n.º SS	Secuencia sentido	SEC ID N.º	Cadena antisentido n.º AS	Secuencia antisentido	SEC ID N.º
AD01564	AD01564	(GLS-	1485	AD01564-	u*Gf*aucuUfccuUfcaCfuUfcga	1541

	-SS	15*)(imann*)cuucgaagUfgAfuGfgaagauc*a*(imann)		AS	*a*g	
AD01565	AD01565-SS	(GLS-15*)(imann*)cacacggaCfgCfuGfgccugaa*a*(imann)	1486	AD01565-AS	u*Uf*ucAfg(gUNA)ccaGfcgUfcCfugug*u*g	1542
AD01566	AD01566-SS	(GLS-15*)(imann*)ggcgaugaCfaAfaAfaagccaa*a*(imann)	1487	AD01566-AS	u*Uf*uggcUfuuuUfugUfcAfucg*c*c	1543
AD01567	AD01567-SS	(GLS-15*)(imann*)cgggcugaUfgGfuAfaaacgaa*a*(imann)	1488	AD01567-AS	u*Uf*ucguUfuuaCfcaUfcAfgcc*c*g	1544
AD01568	AD01568-SS	(GLS-15*)(imann*)gcuggugaAfcCfuCfcaaaauc*a*(imann)	1489	AD01568-AS	u*Gf*auuuUfggaGfguUfcAfcca*g*c	1545
AD01569	AD01569-SS	(GLS-15*)(imann*)guggugaaCfcUfcCfaaaauca*a*(imann)	1490	AD01569-AS	u*Uf*gauuUfuggAfggUfuCfacc*a*c	1546
AD01570	AD01570-SS	(GLS-15*)(imann*)gaccuccaAfaAfuCfaggggau*a*(imann)	1491	AD01570-AS	u*Af*ucCfc(cUNA)ugaUfuUfgGfagg*u*c	1547
AD01571	AD01571-SS	(GLS-15*)(imann*)guuaggcaAfcAfuCfcaucaua*a*(imann)	1492	AD01571-AS	u*Uf*augaUfggaUfguUfgCfcua*a*c	1548
AD01572	AD01572-SS	(GLS-15*)(imann*)gcagguggAfaGfuAfaaaucug*a*(imann)	1493	AD01572-AS	u*Cf*agauUfuuaCfuuCfcAfccu*g*c	1549
AD01573	AD01573-SS	(GLS-15*)(imann*)caaguaaaAfuCfuGfagaagcu*a*(imann)	1494	AD01573-AS	u*Af*gcuuCfucaGfauUfuUfacu*u*g	1550
AD01574	AD01574	(GLS-	1495	AD01574-	u*Uf*ugaaGfucaAfgcUfuCfuca	1551

	-SS	15*)(imann*)gcugagaaGfcUfuGfacuucaa*a*(imann)		AS	*g*c	
AD01575	AD01575-SS	(GLS-15*)(imann*)gcagagucCfaGfuCfgaagauu*a*(imann)	1496	AD01575-AS	u*Af*aucuUfcgaCfugGfaCfucu*g*c	1552
AD01576	AD01576-SS	(GLS-15*)(imann*)cgcgaggAfaAfuAfaaaagau*a*(imann)	1497	AD01576-AS	u*Af*ucuuUfuuaUfuuCfcUfccg*c*g	1553
AD01577	AD01577-SS	(GLS-15*)(imann*)gucacuuAfcCfuGfcuuuugu*a*(imann)	1498	AD01577-AS	u*Af*caaaAfgcaGfguUfaAfgug*a*c	1554
AD01578	AD01578-SS	(GLS-15*)(imann*)cgacuucaAfaAfuCfagugaug*a*(imann)	1499	AD01578-AS	u*Cf*aucaCfugaUfuUfgAfagu*c*g	1555
AD01579	AD01579-SS	(GLS-15*)(imann*)gagagcaaAfuUfuCfaucuuuc*a*(imann)	1500	AD01579-AS	u*Gf*aaagAfugaAfauUfuGfcuc*u*c	1556
AD01580	AD01580-SS	(GLS-15*)(imann*)cgcuaccAfgUfuCfucuuugu*a*(imann)	1501	AD01580-AS	u*Af*caaaGfagaAfcuGfgUfuag*c*g	1557
AD01581	AD01581-SS	(GLS-15*)(imann*)ggaguuguAfgUfuGfgauuugu*a*(imann)	1502	AD01581-AS	u*Af*caaaUfccaAfcuAfcAfacu*c*c	1558
AD01582	AD01582-SS	(GLS-15*)(imann*)gcuguuuUfgCfuUfggauuca*a*(imann)	1503	AD01582-AS	u*Uf*gaauCfcaaGfcaUfaAfaca*g*c	1559
AD01583	AD01583-SS	(GLS-15*)(imann*)gacacugaCfuGfuUfgcuguaa*a*(imann)	1504	AD01583-AS	u*Uf*uacaGfcaaCfagUfcAfgug*u*c	1560
AD02147	AD02147	(GLS-	1505	AD02147-	u*Cf*uuugCfuuuuAfcUfgAfcca	1561

	-SS	15*)(imann*)gauggucaGfuAfaAfagcaaag*a*(imann)		AS	*u*c	
AD02148	AD02148-SS	(GLS-15*)(imann*)cacuggaaGfcGfaUfgacaaaa*a*(imann)	1506	AD02148-AS	u*Uf*uuugUfcaucGfcUfuCfcag*u*g	1562
AD02149	AD02149-SS	(GLS-15*)(imann*)cgaagcgaUfgAfcAfaaaaagc*a*(imann)	1507	AD02149-AS	u*Gf*cuuuUfuuguCfaUfcGfcuu*c*g	1563
AD02150	AD02150-SS	(GLS-15*)(imann*)ggugcaaaUfaGfuCfuacaaac*a*(imann)	1508	AD02150-AS	u*Gf*uuugUfagacUfaUfuUfgca*c*c	1564
AD02151	AD02151-SS	(GLS-15*)(imann*)guuaggcaAfcAfuCfcaucaua*a*(imann)	1509	AD02151-AS	u*Uf*augaUfggauGfuUfgCfcua*a*c	1565
AD02152	AD02152-SS	(GLS-15*)(imann*)cuggaaguAfaAfaUfcugagaa*a*(imann)	1510	AD02152-AS	u*Uf*ucucAfgauuUfuAfcUfucc*a*g	1566
AD02153	AD02153-SS	(GLS-15*)(imann*)caaguaaaAfuCfuGfagaagcu*a*(imann)	1511	AD02153-AS	u*Af*gcuuCfucagAfuUfuUfacu*u*g	1567
AD02154	AD02154-SS	(GLS-15*)(imann*)gaguaaaaUfcUfgAfgaagcuu*a*(imann)	1512	AD02154-AS	u*Af*agcuUfcucaGfaUfuUfuac*u*c	1568
AD02155	AD02155-SS	(GLS-15*)(imann*)cuaaaaucUfgAfgAfagcuuga*a*(imann)	1513	AD02155-AS	u*Uf*caagCfuucuCfaGfaUfuuu*a*g	1569
AD02156	AD02156-SS	(GLS-15*)(imann*)ggaagcuuGfaCfuUfcaaggac*a*(imann)	1514	AD02156-AS	u*Gf*ucCfu(uUNA)gaagUfcAfaGfcuu*c*c	1570
AD02157	AD02157	(GLS-	1515	AD02157-	u*Uf*cgAfc(uUNA)ggacUfcUf	1571

	-SS	15*)(imann*)gaaggacaGfaGfuCfcagucga*a*(imann)		AS	gUfccu*u*c	
AD02158	AD02158-SS	(GLS-15*)(imann*)gugagagaGfuGfuGfgaaaaa*a*(imann)	1516	AD02158-AS	u*Uf*uuuuUfccacAfcUfcUfcuc*a*c	1572
AD02159	AD02159-SS	(GLS-15*)(imann*)gaaaaaaaGfaAfuAfaugacce*a*(imann)	1517	AD02159-AS	u*Gf*ggUfc(aUNA)uuauUfcUfuUfuuu*u*c	1573
AD02160	AD02160-SS	(GLS-15*)(imann*)gugguuaaUfcAfcUfuaaccug*a*(imann)	1518	AD02160-AS	u*Cf*agguUfaaguGfaUfuAfacc*a*c	1574
AD02161	AD02161-SS	(GLS-15*)(imann*)gaucacuuAfaCfcUfgcuuuug*a*(imann)	1519	AD02161-AS	u*Cf*aaaaGfcaggUfuAfaGfuga*u*c	1575
AD02162	AD02162-SS	(GLS-15*)(imann*)gcacuuaaCfcUfgCfuuuuguc*a*(imann)	1520	AD02162-AS	u*Gf*acaaAfagcaGfgUfuAfagu*g*c	1576
AD02163	AD02163-SS	(GLS-15*)(imann*)cgcucgggAfcUfuCfaaaauc*a*(imann)	1521	AD02163-AS	u*Uf*gauuUfugaaGfuCfcCfgag*c*g	1577
AD02164	AD02164-SS	(GLS-15*)(imann*)gaagagcaAfaUfuUfcaucuuu*a*(imann)	1522	AD02164-AS	u*Af*aagaUfgaaaUfuUfgCfucu*u*c	1578
AD02165	AD02165-SS	(GLS-15*)(imann*)gagagcaaAfuUfuCfaucuuuc*a*(imann)	1523	AD02165-AS	u*Gf*aaagAfugaaAfuUfuGfcuc*u*c	1579
AD02166	AD02166-SS	(GLS-15*)(imann*)ggagcaaaUfuUfcAfucuuucc*a*(imann)	1524	AD02166-AS	u*Gf*gaaaGfaugaAfaUfuUfgcu*c*c	1580
AD02167	AD02167	(GLS-	1525	AD02167-	u*Uf*ggaaAfgaugAfaAfuUfugc	1581

	-SS	15*)(imann*)cagcaaauUfuCfaUfcuuucca*a*(imann)		AS	*u*g	
AD02168	AD02168-SS	(GLS-15*)(imann*)ggcaaauUfcAfuCfuuccaa*a*(imann)	1526	AD02168-AS	u*Uf*uggaAfagauGfaAfaUfuug*c*c	1582
AD02169	AD02169-SS	(GLS-15*)(imann*)ccaaauuuCfaUfcUfuuccaaa*a*(imann)	1527	AD02169-AS	u*Uf*uuggAfaagaUfgAfaAfuuu*g*g	1583
AD02170	AD02170-SS	(GLS-15*)(imann*)gaaauuucAfuCfuUfuccaaau*a*(imann)	1528	AD02170-AS	u*Af*uuugGfaaagAfuGfaAfaau*u*c	1584
AD02171	AD02171-SS	(GLS-15*)(imann*)gaauuucAfuCfuUfccaaau*a*(imann)	1529	AD02171-AS	u*Af*auuuGfgaaaGfaUfgAfaau*u*c	1585
AD02172	AD02172-SS	(GLS-15*)(imann*)gauuucAuCfuUfuCfcaauug*a*(imann)	1530	AD02172-AS	u*Cf*auuuUfggaaAfgAfuGfaaa*u*c	1586
AD02173	AD02173-SS	(GLS-15*)(imann*)guucaucuUfuCfcAfaauugau*a*(imann)	1531	AD02173-AS	u*Af*ucaaUfuuggAfaAfgAfuga*a*c	1587
AD02174	AD02174-SS	(GLS-15*)(imann*)cggugggcUfaGfuAfaaaaau*a*(imann)	1532	AD02174-AS	u*Af*uuuuAfuuacUfaGfcCfcac*c*g	1588
AD02175	AD02175-SS	(GLS-15*)(imann*)ggggcuagUfaAfuAfaaaauu*a*(imann)	1533	AD02175-AS	u*Af*auauUfuauUfaCfuAfgcc*c*c	1589
AD02176	AD02176-SS	(GLS-15*)(imann*)gagcaacaAfaGfgAfuugaaa*a*(imann)	1534	AD02176-AS	u*Uf*uucaAfauccUfuUfgUfugc*u*c	1590
AD02177	AD02177	(GLS-	1535	AD02177-	u*Af*acacAfccaaGfuUfuCfaaa*	1591

	-SS	15*)(imann*)cauuugaaAfcUfuGfguguguu*a*(imann)		AS	u*g	
AD02178	AD02178-SS	(GLS-15*)(imann*)cggcuaacCfaGfuUfcucuug*a*(imann)	1536	AD02178-AS	u*Cf*aaagAfgaacUfgGfuUfagc*c*g	1592
AD01562	AD01562-SS	u*g*caa(Ahd)UfaGfUfCfuacaaaccaa(L96)	1537	AD01562-AS	(Vpu*)Uf*gg(dT)u(Tgn)guagacUfaUfuugca*c*a	1593
AD01563	AD01563-SS	u*g*gaaaUfaAfAfGfuauuuacuca(L96)	1538	AD01563-SS	(Vpu*)Gf*aguAfaUfAfacuuUfaUfuucca*a*a	1594
AD01562-1	AD01562-1-SS	(GLS-15*)(imann*)ugcaaaUaGfuCfuAfcaaacca*a*(imann)	1539	AD01562-1-AS	u*Uf*gguuUfguagAfcUfaUfuug*c*a	1595
AD01563-1	AD01563-1-SS	(GLS-15*)(imann*)uggaaaUaAfaGfuUfauuacuc*a*(imann)	1540	AD01563-1-AS	u*Gf*aguaAfuaacUfuUfaUfuuc*c*a	1596
AD02754	AD02754-SS	(GLS-15*)g*gcaugguCfaGfuAfaaagcaa*a*(invab)	1597	AD02754-AS	u*Uf*ugcuUfuuacUfgAfcCfaug*c*c	1718
AD02755	AD02755-SS	(GLS-15*)g*ggucaguAfaAfaGfcaaagac*a*(invab)	1598	AD02755-AS	u*Gf*ucUfu(uUNA)gcuUfuAf cUfgac*c*c	1719
AD02756	AD02756-SS	(GLS-15*)c*gacuggaAfgCfgAfugacaaa*a*(invab)	1599	AD02756-AS	u*Uf*uuguCfaucgCfuUfcCfagu*c*g	1720
AD02757	AD02757-SS	(GLS-15*)g*ggaagcgAfuGfaCfaaaaaag*a*(invab)	1600	AD02757-AS	u*Cf*uuuuUfugucAfuCfgCfuuc*c*c	1721
AD02758	AD02758	(GLS-15*)g*agcgaugAfcAfaAfaaagcca*a*(invab)	1601	AD02758-	u*Uf*ggcuUfuuuuGfuCfaUfcgc	1722

	-SS			AS	*u*c	
AD02759	AD02759 -SS	(GLS-15*)g*gcgaugaCfaAfaAfaagccaa*a*(invab)	1602	AD02759- AS	u*Uf*uggcUfuuuuUfgUfcAfucg *c*c	1723
AD02760	AD02760 -SS	(GLS-15*)g*ucggcucCfaCfuGfagaaccu*a*(invab)	1603	AD02760- AS	u*Af*gguuCfucagUfgGfaGfccg *a*c	1724
AD02761	AD02761 -SS	(GLS-15*)g*gugugcaAfaUfaGfucuacaa*a*(invab)	1604	AD02761- AS	u*Uf*ugUfa(gUNA)acuaUfuUf gCfaca*c*c	1725
AD02762	AD02762 -SS	(GLS-15*)c*ugugcaaAfuAfgUfcuacaaa*a*(invab)	1605	AD02762- AS	u*Uf*uuguAfgacuAfuUfuGfcac *a*g	1726
AD02763	AD02763 -SS	(GLS-15*)c*ugcaauAfgUfcUfacaaacc*a*(invab)	1606	AD02763- AS	u*Gf*guUfu(gUNA)uagaCfuAf uUfugc*a*g	1727
AD02764	AD02764 -SS	(GLS-15*)g*gcaauaGfuCfuAfcuaacca*a*(invab)	1607	AD02764- AS	u*Uf*ggUfu(uUNA)guagAfcUf aUfuug*c*c	1728
AD02765	AD02765 -SS	(GLS-15*)g*aaugucUfaCfaAfacaguu*a*(invab)	1608	AD02765- AS	u*Af*acUfg(gUNA)uuugUfaGf aCfuau*u*c	1729
AD02766	AD02766 -SS	(GLS-15*)g*auagucuAfcAfaAfcaguug*a*(invab)	1609	AD02766- AS	u*Cf*aaCfu(gUNA)guuuGfuAf gAfcua*u*c	1730
AD02767	AD02767 -SS	(GLS-15*)g*uagucuaCfaAfaCfcaguuga*a*(invab)	1610	AD02767- AS	u*Uf*caacUfgguuUfgUfaGfacu *a*c	1731
AD02768	AD02768	(GLS-15*)g*uacaaacCfaGfuUfgaccuga*a*(invab)	1611	AD02768-	u*Uf*caGfg(uUNA)caacUfgGf	1732

	-SS			AS	uUfugu*a*c	
AD02769	AD02769 -SS	(GLS-15*)c*uguggcuCfaUfuAfggcaaca*a*(invab)	1612	AD02769- AS	u*Uf*guUfg(cUNA)cuaaUfgAf gCfcac*a*g	1733
AD02770	AD02770 -SS	(GLS-15*)c*uggcucaUfuAfgGfcaacauc*a*(invab)	1613	AD02770- AS	u*Gf*auguUfgccuAfaUfgAfgcc *a*g	1734
AD02771	AD02771 -SS	(GLS-15*)c*cucauuaGfgCfaAfauccau*a*(invab)	1614	AD02771- AS	u*Af*ugGfa(uUNA)guugCfcUf aAfuga*g*g	1735
AD02772	AD02772 -SS	(GLS-15*)g*uaggcaaCfaUfcCfaucuaa*a*(invab)	1615	AD02772- AS	u*Uf*uaugAfuggaUfgUfuGfccu *a*c	1736
AD02773	AD02773 -SS	(GLS-15*)g*acauccaUfcAfuAfaaccagg*a*(invab)	1616	AD02773- AS	u*Cf*cuGfg(uUNA)uuauGfaUf gGfaug*u*c	1737
AD02774	AD02774 -SS	(GLS-15*)g*cagguggAfaGfuAfaaauug*a*(invab)	1617	AD02774- AS	u*Cf*agAfu(uUNA)uuacUfuCf cAfccu*g*c	1738
AD02775	AD02775 -SS	(GLS-15*)g*agguggaAfgUfaAfaaucuga*a*(invab)	1618	AD02775- AS	u*Uf*caGfa(uUNA)uuuaCfuUf cCfacc*u*c	1739
AD02776	AD02776 -SS	(GLS-15*)g*gguggaaGfuAfaAfaucugag*a*(invab)	1619	AD02776- AS	u*Cf*ucAfg(aUNA)uuuuAfcUf uCfcac*c*c	1740
AD02777	AD02777 -SS	(GLS-15*)c*guggaagUfaAfaAfucugaga*a*(invab)	1620	AD02777- AS	u*Uf*cucaGfauuuUfaCfuUfcca *c*g	1741
AD02778	AD02778	(GLS-15*)g*ggaaguaAfaAfuCfugagaag*a*(invab)	1621	AD02778-	u*Cf*uuCfu(cUNA)agauUfuUf	1742

	-SS			AS	aCfuuc*c*c	
AD02779	AD02779 -SS	(GLS-15*)g*cugagaaGfcUfuGfacucaa*a*(invab)	1622	AD02779- AS	u*Uf*ugaaGfucaaGfcUfuCfuca *g*c	1743
AD02780	AD02780 -SS	(GLS-15*)c*aagcuugAfcUfuCfaaggaca*a*(invab)	1623	AD02780- AS	u*Uf*guCfc(uUNA)ugaaGfuCf aAfgcu*u*g	1744
AD02781	AD02781 -SS	(GLS-15*)g*cagagucCfaGfuCfgaagauu*a*(invab)	1624	AD02781- AS	u*Af*aucuUfcgacUfgGfaCfucu *g*c	1745
AD02782	AD02782 -SS	(GLS-15*)g*ggcaauuCfcUfuUfugauucu*a*(invab)	1625	AD02782- AS	u*Af*gaauCfaaaaGfgAfaUfugc *c*c	1746
AD02783	AD02783 -SS	(GLS-15*)c*caacaaaGfgAfuUfugaaacu*a*(invab)	1626	AD02783- AS	u*Af*guuuCfaaaUfcUfuUfguu *g*g	1747
AD02784	AD02784 -SS	(GLS-15*)g*aacaaagGfaUfuUfgaaacuu*a*(invab)	1627	AD02784- AS	u*Af*aguuUfcaaaUfcCfuUfugu *u*c	1748
AD02785	AD02785 -SS	(GLS-15*)g*uaaccagUfuCfuCfuuguaa*a*(invab)	1628	AD02785- AS	u*Uf*uacaAfagagAfaCfuGfguu *a*c	1749
AD02786	AD02786 -SS	(GLS-15*)g*accaguuCfuCfuUfuguaagg*a*(invab)	1629	AD02786- AS	u*Cf*cuuaCfaaagAfgAfaCfugg *u*c	1750
AD02787	AD02787 -SS	(GLS-15*)g*ccaguucUfcUfuUfguaagga*a*(invab)	1630	AD02787- AS	u*Uf*ccuuAfcaaaGfaGfaAfcug *g*c	1751
AD02788	AD02788	(GLS-15*)g*guucucuUfuGfuAfaaggacuu*a*(invab)	1631	AD02788-	u*Af*agucCfuacAfaAfgAfgaa	1752

	-SS			AS	*c*c	
AD02789	AD02789 -SS	(GLS-15*)g*auacugaGfgGfuGfaauuaa*a*(invab)	1632	AD02789- AS	u*Uf*uaauUfucacCfcUfcAfgua *u*c	1753
AD02790	AD02790 -SS	(GLS-15*)c*agggugaAfaUfuAfagggag*a*(invab)	1633	AD02790- AS	u*Cf*uuCfc(cUNA)uuuaUfuUf cAfccc*u*g	1754
AD02791	AD02791 -SS	(GLS-15*)g*cacucucAfgUfuCfcacucau*a*(invab)	1634	AD02791- AS	u*Af*ugagUfggaaCfuGfaGfagu *g*c	1755
AD02792	AD02792 -SS	(GLS-15*)g*uagguguUfuCfuGfccuuguu*a*(invab)	1635	AD02792- AS	u*Af*acaaGfgcagAfaAfcAfccu *a*c	1756
AD02793	AD02793 -SS	(GLS-15*)g*guuucugCfcUfuGfuugacau*a*(invab)	1636	AD02793- AS	u*Af*ugucAfacaaGfgCfaGfaaa *c*c	1757
AD02794	AD02794 -SS	(GLS-15*)c*cagcugaAfcAfuAfuacauag*a*(invab)	1637	AD02794- AS	u*Cf*uaugUfauauGfuUfcAfgcu *g*g	1758
AD02795	AD02795 -SS	(GLS-15*)g*uguaguuGfgAfuUfugucugu*a*(invab)	1638	AD02795- AS	u*Af*cagaCfaaaUfcAfaCfuac* a*c	1759
AD02796	AD02796 -SS	(GLS-15*)g*guaguugGfaUfuUfgucuguu*a*(invab)	1639	AD02796- AS	u*Af*acagAfcaaaUfcCfaAfcua* c*c	1760
AD02797	AD02797 -SS	(GLS-15*)c*uaguuggAfuUfuGfucuguuu*a*(invab)	1640	AD02797- AS	u*Af*aacaGfacaaAfuCfcAfacu* a*g	1761
AD02798	AD02798	(GLS-15*)g*uggauuuGfuCfuGfuuuaugc*a*(invab)	1641	AD02798-	u*Gf*cauaAfacagAfcAfaAfucc	1762

	-SS			AS	*a*c	
AD02799	AD02799 -SS	(GLS-15*)c*gauuuguCfuGfuUfuaugcuu*a*(invab)	1642	AD02799- AS	u*Af*agcaUfaaacAfgAfcAfaau *c*g	1763
AD02800	AD02800 -SS	(GLS-15*)g*uuugucuGfuUfuAfugcuugg*a*(invab)	1643	AD02800- AS	u*Cf*caAfg(cUNA)auaaAfcAfg Afcaa*a*c	1764
AD02801	AD02801 -SS	(GLS-15*)g*ugucuguUfuAfuGfcuuggau*a*(invab)	1644	AD02801- AS	u*Af*uccaAfgcauAfaAfcAfgac *a*c	1765
AD03099	AD03099 -SS	g*u*ggaaGfuAfAfAfa(Uhd)cugaga*a*a	1645	AD03099- AS	(Vpu*)Uf*ucuCfagauuuuAfcUf uccac*c*u	1766
AD03099 -1	AD03099 -1-SS	(GLS-15*)(invab*)g*u*ggaaGfuAfAfAfaucugagaa*a*(invab)	1646	AD03099-1- AS	(Vpu*)Uf*ucuCfagauuuuAfcUf uccac*c*u	1767
AD03100	AD03100 -SS	c*g*caugGfuCfAfGfuaaaagcaaa(L96)	1647	AD03100- AS	(Vpu*)Uf*ugcUfuUfUfacugAfc Cfaugcg*a*g	1768
AD03148	AD03148 -SS	(GLS-15*)g*aagcucgCfaUfgGfucaguaa*a*(invab)	1648	AD03148- AS	u*Uf*uacuGfaccaUfgCfgAfgcu *u*c	1769
AD03149	AD03149 -SS	(GLS-15*)g*gcucgcaUfgGfuCfaguaaaa*a*(invab)	1649	AD03149- AS	u*Uf*uuUfa(cUNA)ugacCfaUf gCfgag*c*c	1770
AD03150	AD03150 -SS	(GLS-15*)g*ucgcaugGfuCfaGfuaaaagc*a*(invab)	1650	AD03150- AS	u*Gf*cuUfu(uUNA)acugAfcCf aUfgcg*a*c	1771
AD03151	AD03151	(GLS-15*)g*cgcauggUfcAfgUfaaaagca*a*(invab)	1651	AD03151-	u*Uf*gcuUfuacuGfaCfcAfugc	1772

	-SS			AS	*g*c	
AD03152	AD03152 -SS	(GLS-15*)c*cauggucAfgUfaAfaagcaa*a*(invab)	1652	AD03152- AS	u*Uf*uuGfc(uUNA)uuuaCfuGf aCfcau*g*g	1773
AD03153	AD03153 -SS	(GLS-15*)g*uggucagUfaAfaAfgcaaaga*a*(invab)	1653	AD03153- AS	u*Uf*cuUfu(gUNA)cuuuUfaCf uGfacc*a*c	1774
AD03154	AD03154 -SS	(GLS-15*)c*caaggugAfcCfuCfcaagugu*a*(invab)	1654	AD03154- AS	u*Af*caCfu(uUNA)ggagGfuCf aCfcuu*g*g	1775
AD03155	AD03155 -SS	(GLS-15*)g*gaccuccAfaGfuGfuggcuca*a*(invab)	1655	AD03155- AS	u*Uf*gaGfc(cUNA)acacUfuGf gAfggu*c*c	1776
AD03156	AD03156 -SS	(GLS-15*)g*ccuccaaGfuGfuGfgcucauu*a*(invab)	1656	AD03156- AS	u*Af*auGfa(gUNA)ccacAfcUf uGfgag*g*c	1777
AD03157	AD03157 -SS	(GLS-15*)g*uccaaguGfuGfgCfucuuag*a*(invab)	1657	AD03157- AS	u*Cf*uaauGfagccAfcAfcUfugg *a*c	1778
AD03158	AD03158 -SS	(GLS-15*)c*gcucauuAfgGfcAfacaucca*a*(invab)	1658	AD03158- AS	u*Uf*ggAfu(gUNA)uugcCfuAf aUfgag*c*g	1779
AD03159	AD03159 -SS	(GLS-15*)g*cauaggCfaAfcAfuccauca*a*(invab)	1659	AD03159- AS	u*Uf*gaUfg(gUNA)auguUfgCf cUfaau*g*c	1780
AD03160	AD03160 -SS	(GLS-15*)g*ggcaacaUfcCfaUfcuaaaac*a*(invab)	1660	AD03160- AS	u*Gf*uuUfa(uUNA)gaugGfaUf gUfugc*c*c	1781
AD03161	AD03161	(GLS-15*)c*caacaucCfaUfcAfuaaacca*a*(invab)	1661	AD03161-	u*Uf*ggUfu(uUNA)augaUfgGf	1782

	-SS			AS	aUfguu*g*g	
AD03162	AD03162 -SS	(GLS-15*)g*ugagaagCfuUfgAfcuuaag*a*(invab)	1662	AD03162- AS	u*Cf*uuGfa(aUNA)gucaAfgCf uUfcuc*a*c	1783
AD03163	AD03163 -SS	(GLS-15*)g*uccucgcAfgUfuCfpgguuaau*a*(invab)	1663	AD03163- AS	u*Af*uuaaCfcgaaCfuGfcGfagg *a*c	1784
AD03164	AD03164 -SS	(GLS-15*)g*aaugguUfaAfuCfacuuaac*a*(invab)	1664	AD03164- AS	u*Gf*uuaaGfugauUfaAfcCfaau *u*c	1785
AD03165	AD03165 -SS	(GLS-15*)g*auugguuAfaUfcAfcuuaacc*a*(invab)	1665	AD03165- AS	u*Gf*guuaAfgugaUfuAfaCfcaa *u*c	1786
AD03166	AD03166 -SS	(GLS-15*)g*aaucacuUfaAfcCfugcuuuu*a*(invab)	1666	AD03166- AS	u*Af*aaAfg(cUNA)agguUfaAf gUfgau*u*c	1787
AD03167	AD03167 -SS	(GLS-15*)g*ucgggacUfuCfaAfaaucagu*a*(invab)	1667	AD03167- AS	u*Af*cugaUfuuuugAfaGfuCfccg *a*c	1788
AD03168	AD03168 -SS	(GLS-15*)c*acuucaaAfaUfcAfgugaugg*a*(invab)	1668	AD03168- AS	u*Cf*caUfc(aUNA)cugaUfuUf uGfaag*u*g	1789
AD02148 -1	AD02148 -1-SS	(GLS-15*)c*acuggaaGfcGfaUfgacaaaa*a*(invab)	1669	AD02148-1- AS	(Vpu*)Uf*uuugUfcaucGfcUfuC fcag*u*g	1790
AD02757 -1	AD02757 -1-SS	(GLS-15*)g*ggaagcgAfuGfaCfaaaaaag*a*(invab)	1670	AD02757-1- AS	(Vpu*)Cf*uuuuUfugucAfuCfg Cfuuc*c*c	1791
AD02149	AD02149	(GLS-15*)c*gaagcgaUfgAfcAfaaaaagc*a*(invab)	1671	AD02149-1-	(Vpu*)Gf*cuuuUfuuguCfaUfcG	1792

-1	-1-SS			AS	fcuu*c*g	
AD02758-1	AD02758-1-SS	(GLS-15*)g*agcgaugAfcAfaAfaagcca*a*(invab)	1672	AD02758-1-AS	(Vpu*)Uf*ggcuUfuuuuGfuCfaUfcgc*u*c	1793
AD02759-1	AD02759-1-SS	(GLS-15*)g*gcgaugaCfaAfaAfaagccaa*a*(invab)	1673	AD02759-1-AS	(Vpu*)Uf*uggcUfuuuuUfgUfcAfucg*c*c	1794
AD01567-1	AD01567-1-SS	(GLS-15*)c*gggcugaUfgGfuAfaaacgaa*a*(invab)	1674	AD01567-1-AS	(Vpu*)Uf*ucguUfuuacCfaUfcAfgcc*c*g	1795
AD02150-1	AD02150-1-SS	(GLS-15*)g*gugcaaaUfaGfuCfuacaaac*a*(invab)	1675	AD02150-1-AS	(Vpu*)Gf*uuugUfagacUfaUfuUfgca*c*c	1796
AD02764-1	AD02764-1-SS	(GLS-15*)g*gcaaaUaGfuCfuAfaaacca*a*(invab)	1676	AD02764-1-AS	(Vpu*)Uf*ggUfu(uUNA)guagAfcUfaUfuug*c*c	1797
AD02767-1	AD02767-1-SS	(GLS-15*)g*uagucuaCfaAfaCfcaguuga*a*(invab)	1677	AD02767-1-AS	(Vpu*)Uf*caacUfgguuUfgUfaGfacu*a*c	1798
AD02151-1	AD02151-1-SS	(GLS-15*)g*uuaggcaAfcAfuCfcaucaua*a*(invab)	1678	AD02151-1-AS	(Vpu*)Uf*augaUfggauGfuUfgCfcua*a*c	1799
AD01572-1	AD01572-1-SS	(GLS-15*)g*cagguggAfaGfuAfaaaucug*a*(invab)	1679	AD01572-1-AS	(Vpu*)Cf*agauUfuuacUfuCfcAfccu*g*c	1800
AD02153-1	AD02153-1-SS	(GLS-15*)u*aaguaaaAfuCfuGfagaagcu*a*(invab)	1680	AD02153-1-AS	(Vpu*)Af*gcuuCfucagAfuUfuUfacu*u*a	1801
AD02173	AD02173	(GLS-15*)g*uucaucuUfuCfcAfaauugau*a*(invab)	1681	AD02173-1-	(Vpu*)Af*ucaaUfuuggAfaAfgA	1802

-1	-1-SS			AS	fuga*a*c	
AD02782-1	AD02782-1-SS	(GLS-15*)g*ggcauuCfcUfuUfugauucu*a*(invab)	1682	AD02782-1-AS	(Vpu*)Af*gaauCfaaaaGfgAfaUfugc*c*c	1803
AD02783-1	AD02783-1-SS	(GLS-15*)c*caacaaaGfgAfuUfugaaacu*a*(invab)	1683	AD02783-1-AS	(Vpu*)Af*guuuCfaaaUfcUfuUfguu*g*g	1804
AD02784-1	AD02784-1-SS	(GLS-15*)g*aacaaagGfaUfuUfgaaacu*a*(invab)	1684	AD02784-1-AS	(Vpu*)Af*aguuUfcaaaUfcCfuUfugu*u*c	1805
AD02148-2	AD02148-2-SS	(GLS-15*)c*acuggaaGfcGfaUfgacaaaa*a*(invab)	1685	AD02148-2-AS	(Phos-43*)Uf*uuugUfcaucGfcUfuCfcag*u*g	1806
AD02757-2	AD02757-2-SS	(GLS-15*)g*ggaagcgAfuGfaCfaaaaaag*a*(invab)	1686	AD02757-2-AS	(Phos-43*)Cf*uuuuUfugucAfuCfcCfuuc*c*c	1807
AD02149-2	AD02149-2-SS	(GLS-15*)c*gaagcgaUfgAfcAfaaaaagc*a*(invab)	1687	AD02149-2-AS	(Phos-43*)Gf*cuuuUfuuguCfaUfcGfcuu*c*g	1808
AD02758-2	AD02758-2-SS	(GLS-15*)g*agcgaugAfcAfaAfaagcca*a*(invab)	1688	AD02758-2-AS	(Phos-43*)Uf*ggcuUfuuuuGfuCfaUfcgc*u*c	1809
AD02759-2	AD02759-2-SS	(GLS-15*)g*gcgaugaCfaAfaAfaagccaa*a*(invab)	1689	AD02759-2-AS	(Phos-43*)Uf*uggcUfuuuuUfgUfcAfu cg*c*c	1810

AD01567-2	AD01567-2-SS	(GLS-15*)c*gggcugaUfgGfuAfaaacgaa*a*(invab)	1690	AD01567-2-AS	(Phos-43*)Uf*ucguUfuuacCfaUfcAfgcc*c*g	1811
AD02150-2	AD02150-2-SS	(GLS-15*)g*gugcaaaUfaGfuCfuacaaac*a*(invab)	1691	AD02150-2-AS	(Phos-43*)Gf*uuugUfagacUfaUfuUfgca*c*c	1812
AD02764-2	AD02764-2-SS	(GLS-15*)g*gcaaaUfaGfuCfuAfaaacca*a*(invab)	1692	AD02764-2-AS	(Phos-43*)Uf*ggUfu(uUNA)guagAfcUfaUfuug*c*c	1813
AD02767-2	AD02767-2-SS	(GLS-15*)g*uagucuaCfaAfaCfcaguuga*a*(invab)	1693	AD02767-2-AS	(Phos-43*)Uf*caacUfgguuUfgUfaGfacu*a*c	1814
AD02151-2	AD02151-2-SS	(GLS-15*)g*uuaggcaAfcAfuCfcaucaua*a*(invab)	1694	AD02151-2-AS	(Phos-43*)Uf*augaUfggauGfuUfgCfcua*a*c	1815
AD01572-2	AD01572-2-SS	(GLS-15*)g*cagguggAfaGfuAfaaaucug*a*(invab)	1695	AD01572-2-AS	(Phos-43*)Cf*agauUfuuacUfuCfcAfccu*g*c	1816
AD02153-2	AD02153-2-SS	(GLS-15*)u*aaguaaaAfuCfuGfagaagcu*a*(invab)	1696	AD02153-2-AS	(Phos-43*)Af*gcuuCfucagAfuUfuUfacu*u*a	1817
AD02173-2	AD02173-2-SS	(GLS-15*)g*uucaucuUfuCfcAfaauugau*a*(invab)	1697	AD02173-2-AS	(Phos-43*)Af*ucaaUfuuggAfaAfgAfu ga*a*c	1818

AD02782-2	AD02782-2-SS	(GLS-15*)g*ggcaauuCfcUfuUfugauucu*a*(invab)	1698	AD02782-2-AS	(Phos-43*)Af*gaauCfaaaaGfgAfaUfugc*c*c	1819
AD02783-2	AD02783-2-SS	(GLS-15*)c*caacaaaGfgAfuUfugaaacu*a*(invab)	1699	AD02783-2-AS	(Phos-43*)Af*guuuCfaaaUfcUfuUfguu*g*g	1820
AD02784-2	AD02784-2-SS	(GLS-15*)g*aacaaagGfaUfuUfgaaacuu*a*(invab)	1700	AD02784-2-AS	(Phos-43*)Af*aguuUfcaaaUfcCfuUfugu*u*c	1821
AD02148-3	AD02148-3-SS	(GLS-15*)c*acuggaaGfcGfaUfgacaaaa*a*(invab)	1701	AD02148-3-AS	(Phos-53*)Uf*uuugUfcaucGfcUfuCfcag*u*g	1822
AD02757-3	AD02757-3-SS	(GLS-15*)g*ggaagcgAfuGfaCfaaaaaag*a*(invab)	1702	AD02757-3-AS	(Phos-53*)Cf*uuuuUfugucAfuCfcGfcuc*c*c	1823
AD02149-3	AD02149-3-SS	(GLS-15*)c*gaagcgaUfgAfcAfaaaaagc*a*(invab)	1703	AD02149-3-AS	(Phos-53*)Gf*cuuuUfuuguCfaUfcGfcuu*c*g	1824
AD02758-3	AD02758-3-SS	(GLS-15*)g*agcgaugAfcAfaAfaagcca*a*(invab)	1704	AD02758-3-AS	(Phos-53*)Uf*ggcuUfuuuuGfuCfaUfcgc*u*c	1825
AD02759-3	AD02759-3-SS	(GLS-15*)g*gcgaugaCfaAfaAfaagccaa*a*(invab)	1705	AD02759-3-AS	(Phos-53*)Uf*uggcUfuuuuUfgUfcAfu cg*c*c	1826

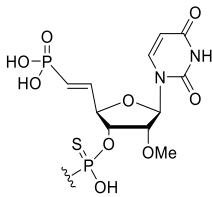
AD01567-3	AD01567-3-SS	(GLS-15*)c*gggcugaUfgGfuAfaaacgaa*a*(invab)	1706	AD01567-3-AS	(Phos-53*)Uf*ucguUfuuacCfaUfcAfgcc*c*g	1827
AD02150-3	AD02150-3-SS	(GLS-15*)g*gugcaaaUfaGfuCfuacaaac*a*(invab)	1707	AD02150-3-AS	(Phos-53*)Gf*uuugUfagacUfaUfuUfgca*c*c	1828
AD02764-3	AD02764-3-SS	(GLS-15*)g*gcaaauaGfuCfuAfaaacca*a*(invab)	1708	AD02764-3-AS	(Phos-53*)Uf*ggUfu(uUNA)guagAfcUfaUfuug*c*c	1829
AD02767-3	AD02767-3-SS	(GLS-15*)g*uagucuaCfaAfaCfcaguuga*a*(invab)	1709	AD02767-3-AS	(Phos-53*)Uf*caacUfgguuUfgUfaGfacu*a*c	1830
AD02151-3	AD02151-3-SS	(GLS-15*)g*uuaggcaAfcAfuCfcaucaua*a*(invab)	1710	AD02151-3-AS	(Phos-53*)Uf*augaUfggauGfuUfgCfcua*a*c	1831
AD01572-3	AD01572-3-SS	(GLS-15*)g*cagguggAfaGfuAfaaaucug*a*(invab)	1711	AD01572-3-AS	(Phos-53*)Cf*agauUfuuacUfuCfcAfccu*g*c	1832
AD02153-3	AD02153-3-SS	(GLS-15*)u*aaguaaaAfuCfuGfagaagcu*a*(invab)	1712	AD02153-3-AS	(Phos-53*)Af*gcuuCfucagAfuUfuUfacu*u*a	1833
AD02173-3	AD02173-3-SS	(GLS-15*)g*uucaucuUfuCfcAfaauugau*a*(invab)	1713	AD02173-3-AS	(Phos-53*)Af*ucaaUfuuggAfaAfgAfu ga*a*c	1834

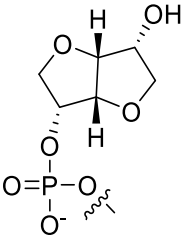
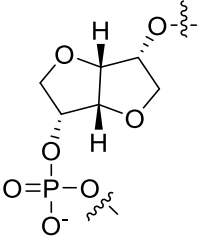
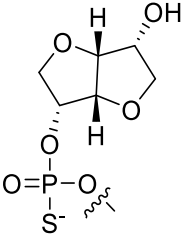
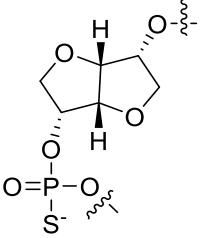
AD02782-3	AD02782-3-SS	(GLS-15*)g*ggcaauuCfcUfuUfugauucu*a*(invab)	1714	AD02782-3-AS	(Phos-53*)Af*gaauCfaaaaGfgAfaUfugc*c*c	1835
AD02783-3	AD02783-3-SS	(GLS-15*)c*caacaaaGfgAfuUfugaaacu*a*(invab)	1715	AD02783-3-AS	(Phos-53*)Af*guuuCfaaaUfcUfuUfguu*g*g	1836
AD02784-3	AD02784-3-SS	(GLS-15*)g*aacaaagGfaUfuUfgaaacu*a*(invab)	1716	AD02784-3-AS	(Phos-53*)Af*aguuUfcaaaUfcCfuUfugu*u*c	1837
AD03098-1	AD03098-1-SS	(GLS-15*)(invab*) caGfgUfggAfaGfuAfAfaAfuCfug*a*(invab)	1717	AD03098-1-AS	(Vpu*)Cf*AfGfAfuUfuUfAfcuuCfcAfccUfg*g*g	1838

L96 se refiere al compuesto GalNAc3 en Jayaprakash, *et al.*, (2014) J. Am. Chem. Soc., 136, 16958–16961.

Tabla 4: Abreviaturas de monómeros de nucleótidos utilizados en la representación de secuencias de ácidos nucleicos. Se entenderá que estos monómeros, cuando están presentes en un oligonucleótido, están unidos mutuamente por enlaces 5'-3'-fosfodiéster, y se entiende que cuando el nucleótido contiene una modificación 2'-fluoro, entonces el flúor reemplaza al hidroxilo en esa posición del nucleótido original (es decir, es un 2'-desoxi-2'-fluoronucleótido). También se entenderá que las abreviaturas corresponden a nucleótidos que omiten el 3'-fosfato cuando se encuentran en la posición 3'-terminal (es decir, son 3'-OH). Un experto en la materia comprenderá que estas abreviaturas son simplemente símbolos de identificación y podrá determinar los modos de enlace de las secuencias de nucleótidos que contienen estas abreviaturas.

Abreviaturas	Nucleótidos
A	adenosina-3'-fosfato
C	citidina-3'-fosfato
G	guanosina-3'-fosfato
T	5-metiluridina-3'-fosfato
U	uridina-3'-fosfato
a	2'-O-metiladenosina-3'-fosfato
c	2'-O-metilcitidina-3'-fosfato
g	2'-O-metilguanosina-3'-fosfato
t	2'-O-metil-5-metiluridina-3'-fosfato
u	2'-O-metiluridina-3'-fosfato
Af	2'-fluoroadenosina-3'-fosfato
Cf	2'-fluorocitidina-3'-fosfato
Gf	2'-fluoroguanosina-3'-fosfato
Tf	2'-fluoro-5-metiluridina-3'-fosfato
Uf	2'-fluorouridina-3'-fosfato
Af*	2'-fluoroadenosina-3'-fosforotioato

Cf*	2'-fluorocitidina-3'-fosforotioato
Gf*	2'-fluoroguanosina-3'-fosforotioato
Tf*	2'-fluoro-5-metiluridina-3'-fosforotioato
Uf*	2'-fluorouridina-3'-fosforotioato
a*	2'-O-metiladenosina-3'-fosforotioato
c*	2'-O-metilcitidina-3'-fosforotioato
g*	2'-O-metilguanosina-3'-fosforotioato
t*	2'-O-metil-5-metiluridina-3'-fosforotioato
u*	2'-O-metiluridina-3'-fosforotioato
aUNA	2',3'-seco-adenosina-3'-fosfato
cUNA	2',3'-seco-citidina-3'-fosfato
gUNA	2',3'-seco-guanosina-3'-fosfato
tUNA	2',3'-seco-5-metiluridina-3'-fosfato
uUNA	2',3'-seco-uridina-3'-fosfato
Ahd	2'-O-hexadecil-adenosina-3'-fosfato
Tgn	Isómero S del ácido nucleico de timidina-glicol (GNA)
dT	2'-desoxitimidina-3'-fosfato
Vp	Fosfato de vinilo
Vpu*	

		
imann*	residuo de isomanida-fosforotioato	
	imann* cuando está al final de cada cadena 	imann* cuando está en el medio de cada cadena 

En determinadas realizaciones de la invención, un ARNbc (también denominado “cadena doble” en el presente documento) es uno descrito en una de las Tablas 1 a 3. Cada fila de las Tablas 1 a 3 describe una cadena doble que comprende la secuencia de la cadena sentido y la secuencia de la cadena antisentido en esa fila de la tabla. Además de las cadenas dobles descritas en las Tablas 1 a 3, se entenderá que en algunas realizaciones, una cadena doble de la invención puede incluir secuencias sentido y antisentido de las Tablas 1 a 3, que difieren en cero, uno, dos o tres nucleótidos que se muestran en una secuencia de las Tablas 1 a 3. Así, a modo de ejemplos no limitantes, en algunas realizaciones, una cadena antisentido en una cadena doble de la invención puede ser la SEC ID N.º: 1542, 1543, 1544, 1545, 1546, 1547 o 1548 con cero, uno, dos o tres nucleótidos diferentes a los de la SEC ID N.º 1542, 1543, 1544, 1545, 1546, 1547 o 1548 respectivamente.

Se entenderá que la secuencia de la cadena sentido y la secuencia de la cadena antisentido en una cadena doble de la invención pueden seleccionarse independientemente. Por lo tanto, un ARNbc de la invención puede comprender una cadena sentido y una cadena antisentido de una cadena doble descrita en una fila en las Tablas 1 a 3. Alternativamente, en un ARNbc de la invención, una o ambas de las cadenas sentido y antisentido seleccionadas en el ARNbc pueden incluir secuencias que se muestran en las Tablas 1 a 3, pero con una o ambas de las secuencias sentido y antisentido que incluyen 1, 2, 3 o más sustituciones de nucleobases frente a la secuencia original. Las secuencias seleccionadas pueden, en algunas realizaciones, ser más largas o más cortas que su secuencia original. Por lo tanto, los agentes de ARNbc incluidos en la invención

pueden, pero no necesariamente, incluir secuencias exactas de los pares sentido y antisentido descritos como cadenas dobles en las Tablas 1 a 3.

En algunas realizaciones, un agente de ARNbc comprende una cadena sentido y una cadena antisentido, las posiciones de nucleótidos 2 a 18 en la cadena antisentido comprenden una región de complementariedad con un transcrito de ARNm de la MAPT, en donde la región de complementariedad comprende al menos 15 nucleótidos contiguos que difieren en 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de una de las secuencias antisentido enumeradas en una de las Tablas 1 a 3, y que opcionalmente comprende un ligando diana. En algunos casos, la región de complementariedad con el transcrito de ARNm de la MAPT comprende al menos 15, 16, 17, 18 o 19 nucleótidos contiguos que difieren en no más de 3 nucleótidos de una de las secuencias antisentido enumeradas en una de las Tablas 1 a 3. En algunas realizaciones de un agente de ARNbc de la invención, la cadena antisentido del agente de ARNbc es al menos casi complementaria con cualquier región diana de SEC ID N.º: 1 y se proporciona en cualquiera de las Tablas 1 a 3. En algunas realizaciones, una cadena antisentido del agente de ARNbc de la invención es totalmente complementaria con cualquier región diana de SEC ID N.º: 1 y se proporciona en cualquiera de las Tablas 1 a 3. En algunas realizaciones, un agente de ARNbc incluye una secuencia de cadena sentido establecida en cualquiera de las Tablas 1 a 3, y la secuencia de cadena sentido es al menos casi complementaria con la secuencia de cadena antisentido en el agente de ARNbc. En otras realizaciones, un agente de ARNbc de la invención comprende una secuencia de cadena sentido establecida en cualquiera de las Tablas 1 a 3, y la secuencia de cadena sentido es totalmente complementaria a la secuencia de cadena antisentido en el agente de ARNbc. En algunos casos, el agente de ARNbc de la invención comprende una secuencia de cadena antisentido establecida en cualquiera de las Tablas 1 a 3. Algunas realizaciones de un agente de ARNbc de la invención comprenden las secuencias sentido y antisentido descritas como cadenas dobles en cualquiera de las Tablas 1 a 3. Como se describe en el presente documento, se entenderá que las cadenas sentido y antisentido en una cadena doble de la invención pueden seleccionarse independientemente.

Emparejamientos incorrectos

Los expertos en la técnica saben que en el ARNbc los emparejamientos incorrectos se toleran sin afectar la eficacia, especialmente los emparejamientos incorrectos que se producen en la región terminal del ARNbc. Ciertos emparejamientos incorrectos se toleran mejor, por ejemplo, los emparejamientos incorrectos con los pares de bases oscilantes G:U y A:C se toleran mejor sin afectar la eficacia (Du et al., A systematic analysis of the silencing effects of an active siRNA

at all single-nucleotide mismatched target sites. Nucleic Acids Res. 2005 Mar 21;33(5):1671-7. Doi: 10.1093/nar/gki312. Nucleic Acids Res. 2005; 33(11): 3698). En algunas realizaciones de los métodos y compuestos de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT pueden contener uno o más emparejamientos incorrectos con la secuencia diana de la MAPT. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc de la MAPT de la invención no incluye emparejamientos incorrectos. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc de la MAPT de la invención incluye no más de 1 emparejamiento incorrecto. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc de la MAPT de la invención incluye no más de 2 emparejamientos incorrectos. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc de la MAPT de la invención incluye no más de 3 emparejamientos incorrectos. En algunas realizaciones de la invención, una cadena antisentido de un agente de ARNbc de la MAPT contiene emparejamientos incorrectos con una secuencia diana de la MAPT que no están ubicados en el centro de la región de complementariedad. En algunas realizaciones, la cadena antisentido del agente de ARNbc de la MAPT incluye 1, 2, 3, 4 o más emparejamientos incorrectos que se encuentran entre los últimos 5, 4, 3, 2 o 1 nucleótidos de uno o ambos extremos 5'-terminal o 3'-terminal de la región de complementariedad. Los métodos descritos en el presente documento y/o los métodos conocidos en la técnica se pueden utilizar para determinar si un agente de ARNbc de la MAPT que contiene un emparejamiento incorrecto con una secuencia diana de la MAPT es eficaz para inhibir la expresión del gen MAPT.

20 *Complementariedad*

Tal como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, el término “complementario/a”, cuando se usa para describir una primera secuencia de nucleótidos (por ejemplo, la cadena sentido del agente de ARNbc de la MAPT o el ARNm de la MAPT diana) en relación con una segunda secuencia de nucleótidos (por ejemplo, un polinucleótido antisentido monocatenario o una cadena antisentido del agente de ARNbc de la MAPT), significa la capacidad de un oligonucleótido o polinucleótido que incluye la primera secuencia de nucleótidos para hibridarse (formar enlaces de hidrógeno de pares de bases en condiciones fisiológicas de mamíferos [o condiciones similares *in vitro*]) y formar una estructura de doble cadena o doble hélice en determinadas condiciones con un oligonucleótido o polinucleótido que incluye la segunda secuencia de nucleótidos. Se pueden aplicar otras condiciones, como las condiciones relevantes en términos fisiológicos que se pueden encontrar dentro de un organismo. Un experto en la técnica podrá determinar el conjunto de condiciones más apropiadas para realizar una prueba de complementariedad de dos secuencias de acuerdo con la aplicación final de los nucleótidos hibridados. Las secuencias complementarias incluyen pares de bases de

Watson-Crick o pares de bases que no son de Watson-Crick e incluyen nucleótidos naturales o modificados o miméticos de nucleótidos, al menos en la medida en que se cumplan los requisitos de hibridación anteriores. La complementariedad o identidad de secuencia es independiente de la modificación.

5 Las secuencias complementarias, por ejemplo, dentro de un ARNbc de la MAPT, tal como se describe en el presente documento, incluyen el emparejamiento de bases del oligonucleótido o polinucleótido que comprende una primera secuencia de nucleótidos con un oligonucleótido o polinucleótido que comprende una segunda secuencia de nucleótidos en toda la longitud de una o ambas secuencias de nucleótidos. Dichas secuencias se pueden denominar “totalmente
10 complementarias” entre sí en el presente documento. Se entenderá que, en las realizaciones, cuando dos oligonucleótidos se diseñan para formar, tras la hibridación, uno o más extremos protuberantes monocatenarios, dichos extremos protuberantes no se consideran en el presente documento como emparejamientos incorrectos con respecto a la determinación de la complementariedad. Por ejemplo, un agente de ARNbc de la MAPT que comprende un
15 oligonucleótido con una longitud de 19 nucleótidos y otro oligonucleótido con una longitud de 20 nucleótidos, en donde el oligonucleótido más largo comprende una secuencia de 19 nucleótidos que es totalmente complementaria al oligonucleótido más corto, aún se puede denominar “totalmente complementario” a los fines descritos en el presente documento. Por lo tanto, como se usa en el presente documento, “totalmente complementario” significa que todas
20 (100 %) las bases en una secuencia contigua de un primer polinucleótido se hibridarán con la misma cantidad de bases en una secuencia contigua de un segundo polinucleótido. La secuencia contigua puede comprender toda o una parte de una primera o segunda secuencia de nucleótidos.

El término "casi complementario", tal como se utiliza en el presente documento, significa que en un par hibridado de secuencias de nucleobases, al menos aproximadamente el 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %, pero no la totalidad, de las bases en una secuencia contigua de un primer polinucleótido se hibridará con el mismo número de bases en una secuencia contigua de un segundo polinucleótido. El término “casi complementario” se puede usar en referencia a una primera secuencia con respecto a una segunda secuencia si las dos secuencias incluyen uno o más, por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4 o
30 5 pares de bases emparejadas incorrectamente tras la hibridación para una cadena doble de hasta 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 pares de bases (pb), al mismo tiempo que conserva la capacidad de hibridarse en las condiciones más relevantes para su aplicación final, por ejemplo, la inhibición de la expresión del gen MAPT a través de una vía de RISC.

El término "parcialmente complementario" se puede usar en el presente documento en referencia

a un par hibridado de secuencias de nucleobases, en el que al menos el 75 % de las bases, pero no todas, en una secuencia contigua de un primer polinucleótido se hibridarán con la misma cantidad de bases en una secuencia contigua de un segundo polinucleótido. En algunas realizaciones, “parcialmente complementario” significa que al menos el 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de las bases en una secuencia contigua de un primer polinucleótido se hibridará con la misma cantidad de bases en una secuencia contigua de un segundo polinucleótido.

Los términos “complementario”, “totalmente complementario”, “casi complementario” y “parcialmente complementario” se usan en el presente documento en referencia al emparejamiento de bases entre la cadena sentido y la cadena antisentido de un agente de ARNbc de la MAPT, entre la cadena antisentido de un agente de ARNbc de la MAPT y una secuencia de un ARNm de la MAPT diana, o entre un oligonucleótido antisentido monocatenario y una secuencia de un ARNm de la MAPT diana. Se entenderá que el término “cadena antisentido de un agente de ARNbc de la MAPT” puede referirse a la misma secuencia de un “agente polinucleotídico antisentido de la MAPT”.

Como se utiliza en el presente documento, el término “casi idéntico” o “cuasiidentidad” utilizado en referencia a una secuencia de ácido nucleico significa una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia con al menos aproximadamente un 85 % de identidad de secuencias o más, preferentemente al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 %, en comparación con una secuencia de referencia. El porcentaje de identidad de secuencia se determina comparando dos secuencias alineadas óptimamente en una ventana de comparación. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las que se produce la base de ácido nucleico idéntica en ambas secuencias para producir el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100 para producir el porcentaje de identidad de secuencias. Las invenciones descritas en el presente documento abarcan secuencias de nucleótidos casi idénticas a las descritas en este documento, por ejemplo, en las Tablas 1 a 3. En algunas realizaciones, las secuencias descritas en el presente documento son exactamente idénticas, o al menos tienen aproximadamente un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia a las descritas en el presente documento, por ejemplo, en las Tablas 1 a 3.

Como se usa en el presente documento, el término “cadena que comprende una secuencia”

significa un oligonucleótido que comprende una cadena de nucleótidos que se describe mediante la secuencia a la que se hace referencia usando la nomenclatura de nucleótidos estándar. El término “ARN bicatenario” o “ARNbc”, como se utiliza en el presente documento, se refiere a un ARNi que incluye una molécula de ARN o un complejo de moléculas que tienen una región de cadena doble hibridada que comprende dos cadenas de ácido nucleico antiparalelas y casi o totalmente complementarias, que se dice que tienen orientaciones “sentido” y “antisentido” con respecto a un ARN diana de la MAPT. La región de cadena doble puede ser de cualquier longitud que permita la degradación específica de un ARN de la MAPT diana previsto a través de una vía de RISC, pero normalmente variará de 9 a 30 pares de bases de longitud, por ejemplo, de 15 a 30 pares de bases de longitud. Considerando una cadena doble entre 9 y 30 pares de bases, la cadena doble puede tener cualquier longitud en este intervalo, por ejemplo, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30, y cualquier subrango comprendido entre, que incluye, entre otros, 15 a 30 pares de bases, 15 a 26 pares de bases, 15 a 23 pares de bases, 15 a 22 pares de bases, 15 a 21 pares de bases, 15 a 20 pares de bases, 15 a 19 pares de bases, 15 a 18 pares de bases, 15 a 17 pares de bases, 18 a 30 pares de bases, 18 a 26 pares de bases, 18 a 23 pares de bases, 18 a 22 pares de bases, 18 a 21 pares de bases, 18 a 20 pares de bases, 19 a 30 pares de bases, 19 a 26 pares de bases, 19 a 23 pares de bases, 19 a 22 pares de bases, 19 a 21 pares de bases, 19 a 20 pares de bases, 20 a 30 pares de bases, 20 a 26 pares de bases, 20 a 25 pares de bases, 20 a 24 pares de bases, 20 a 23 pares de bases, 20 a 22 pares de bases, 20 a 21 pares de bases, 21 a 30 pares de bases, 21 a 26 pares de bases, 21 a 25 pares de bases, 21 a 24 pares de bases, 21 a 23 pares de bases o 21 a 22 pares de bases. Los agentes de ARNbc de la MAPT generados en la célula mediante el procesamiento con enzimas Dicer y enzimas similares generalmente tienen una longitud de entre 19 y 22 pares de bases. Una cadena de la región de cadena doble de un agente de ADNbc de la MAPT comprende una secuencia que es casi complementaria a una región de un ARN de la MAPT. Las dos cadenas que forman la estructura de la cadena doble pueden ser de una sola molécula de ARN que tiene al menos una región autocomplementaria, o pueden formarse a partir de dos o más moléculas de ARN separadas. Cuando la región de cadena doble se forma a partir de dos cadenas de una sola molécula, la molécula puede tener una región de cadena doble separada por una cadena de nucleótidos monocatenaria (en el presente documento denominada “bucle de la horquilla”) entre el extremo 3'-terminal de una cadena y el extremo 5'-terminal de la otra cadena respectiva que forma la estructura de cadena doble. En algunas realizaciones de la invención, un bucle de la horquilla comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más nucleótidos no emparejados. Cuando las dos cadenas casi complementarias de un agente de ARNbc de la MAPT se componen de moléculas de ARN separadas, esas moléculas no necesitan

conectarse de forma covalente, pero pueden hacerlo. Cuando las dos cadenas se conectan de forma covalente por medios distintos de un bucle de la horquilla, la estructura de conexión se denomina “conector”. El término “ARNip” también se utiliza en el presente documento para referirse a un agente de ARNbc, tal como se describe en el presente documento.

- 5 En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT puede incluir una secuencia sentido y antisentido que no tiene nucleótidos no apareados o análogos de nucleótidos en uno o ambos extremos terminales del agente de ARNbc. Un extremo sin nucleótidos no apareados se denomina “extremo romo” y no tiene un extremo con nucleótidos protuberantes. Si ambos extremos de un agente de ARNbc son romos, el ARNbc se describe como “con extremos romos”. En algunas realizaciones de la invención, un primer extremo de un agente de ARNbc es romo, en algunas realizaciones un segundo extremo de un agente de ARNbc es romo y, en determinadas realizaciones de la invención, ambos extremos de un agente de ARNbc de la MAPT son romos.

- En algunas realizaciones de los agentes de ARNbc de la invención, el ARNbc no tiene uno o dos extremos romos. En tales casos, hay al menos un nucleótido no emparejado al final de una cadena de un agente de ARNbc. Por ejemplo, cuando el extremo 3' de una cadena de un ARNbc se extiende más allá del extremo 5' de la otra cadena, o viceversa, hay un extremo con nucleótidos protuberantes. Un ARNbc puede comprender un extremo protuberante de al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más nucleótidos. Un extremo con nucleótidos protuberantes puede comprender o consistir en un análogo de nucleótido/nucleósido, que incluye un desoxinucleótido/nucleósido. Se entenderá que en algunas realizaciones un nucleótido protuberante está en una cadena sentido de un agente de ARNbc, en una cadena antisentido de un agente de ARNbc, o en ambos extremos de un agente de ARNbc y los nucleótidos de un nucleótido protuberante pueden estar presentes en el extremo 5'-terminal, el extremo 3'-terminal o ambos extremos de una cadena antisentido o sentido de un ARNbc. En determinadas realizaciones de la invención, uno o más de los nucleótidos en una protuberancia se reemplazan con un nucleósido con tiofosfato.

- Tal como se usa en el presente documento, el término “cadena antisentido” o “cadena guía” se refiere a la cadena del agente de ARNbc de la MAPT que incluye una región que es casi complementaria a una secuencia diana de la MAPT. Tal como se usa en el presente documento, el término “cadena sentido” o “cadena pasajera” se refiere a la cadena de un agente de ARNbc de la MAPT que incluye una región que es casi complementaria a una región de la cadena antisentido del agente de ARNbc de la MAPT.

En algunas realizaciones de la invención, el ARN de un agente de ARNi de la MAPT se modifica químicamente para mejorar la estabilidad y/o desarrollar una o más características beneficiosas adicionales. Los ácidos nucleicos en determinadas realizaciones de la invención se pueden sintetizar y/o modificar mediante métodos bien establecidos en la técnica, por ejemplo, los descritos en “Current protocols in Nucleic Acid Chemistry”, Beaucage, S. L. *et al.* (Eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., USA, que se incorpora al presente documento como referencia. Las modificaciones que pueden estar presentes en determinadas realizaciones de los agentes de ARNbc de la MAPT de la invención incluyen, por ejemplo, (a) modificaciones en el extremo, por ejemplo, modificaciones en el extremo 5'-terminal (fosforilación, conjugación, enlaces invertidos, etc.), modificaciones en el extremo 3'-terminal (conjugación, nucleótidos de ADN, enlaces invertidos, etc.); (b) modificaciones de bases, por ejemplo, reemplazo con bases estabilizadoras, bases desestabilizadoras o bases que se emparejan con un repertorio expandido de complementarias, eliminación de bases (nucleótidos abásicos) o bases conjugadas; (c) modificaciones de azúcares (por ejemplo, en la posición 2' o la posición 4') o reemplazo de azúcares; y (d) modificaciones de la estructura principal, incluida la modificación o el reemplazo de los enlaces fosfodiéster. Algunos ejemplos específicos de compuestos de ARN útiles en determinadas realizaciones de agentes de ARNbc de la MAPT, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT de la invención incluyen, entre otros, los ARN que comprenden estructuras principales modificadas o sin enlaces internucleotídicos naturales. Como ejemplo no limitante, un ARN que tiene una estructura principal modificada puede no tener un átomo de fósforo en la estructura principal. Los ARN que no tienen un átomo de fósforo en su estructura internucleosídica principal se pueden denominar oligonucleósidos. En determinadas realizaciones de la invención, un ARN modificado tiene un átomo de fósforo en su estructura internucleosídica principal.

Se entenderá que el término “molécula de ARN” o “ARN” o “molécula de ácido ribonucleico” abarca no solo las moléculas de ARN expresadas o presentes en la naturaleza, sino también los análogos y derivados de ARN que comprenden uno o más análogos o derivados de ribonucleótidos/ribonucleósidos, como se describe en el presente documento o como se conoce en la técnica. Los términos “ribonucleósido” y “ribonucleótido” se pueden usar indistintamente en el presente documento. Una molécula de ARN se puede modificar en la estructura de nucleobase o en la estructura principal de ribosa-fosfato, por ejemplo, como se describe en el presente documento más adelante, y las moléculas que comprenden análogos o derivados de ribonucleósidos deben conservar la capacidad de formar una cadena doble. Como ejemplos no limitantes, una molécula de ARN también puede incluir al menos un ribonucleósido modificado que incluye, entre otros, un nucleósido modificado con 2'-O-metilo, un nucleósido que

comprende un grupo fosforotioato 5', un nucleósido terminal unido a un derivado de colesterilo o grupo bisdecilamida de ácido dodecanoico, un nucleósido bloqueado, un nucleósido abásico, un nucleósido modificado con 2'-desoxi-2'-fluoro, un nucleósido modificado con 2'-amino, un nucleósido modificado con 2'-alquilo, un nucleósido morfolino, un fosforamidato o una base no natural que comprende nucleósido, o cualquier combinación de estos. En algunas realizaciones de la invención, una molécula de ARN comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o hasta la longitud completa de los ribonucleósidos de la molécula del agente de ARNbc de la MAPT que son ribonucleósidos modificados. Las modificaciones no necesitan ser las mismas para cada uno de dicha pluralidad de ribonucleósidos modificados en una molécula de ARN.

Los agentes de ARNbc, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT de la invención pueden comprender, en algunas realizaciones, uno o más nucleótidos modificados seleccionados independientemente y/o uno o más enlaces no fosfodiéster seleccionados independientemente. Como se usa en el presente documento, el término “seleccionado independientemente” usado en referencia a un elemento seleccionado, tal como un nucleótido modificado, enlace no fosfodiéster, etc., significa que dos o más elementos seleccionados pueden, no necesariamente, ser iguales entre sí.

Tal como se usa en el presente documento, una “base nucleotídica”, un “nucleótido” o una “nucleobase” es un compuesto heterocíclico de pirimidina o purina, que es un constituyente estándar de todos los ácidos nucleicos e incluye las bases que forman los nucleótidos adenina, guanina, citosina, timina y uracilo. Una nucleobase puede modificarse adicionalmente para incluir, sin limitar: bases universales, bases hidrófobas, bases con emparejamiento no específico, bases expandidas en tamaño y bases fluoradas. El término “ribonucleótido” o “nucleótido” se puede usar en el presente documento para referirse a un nucleótido no modificado, un nucleótido modificado o una fracción de reemplazo sustituta. Los expertos en la técnica reconocerán que la guanina, la citosina, la adenina y el uracilo pueden reemplazarse por otras fracciones casi sin alterar las propiedades de emparejamiento de bases de un oligonucleótido que comprende un nucleótido que porta dicha fracción de reemplazo.

Tal como se utiliza en el presente documento, “opcionalmente” u “opcionalmente” significa que el evento o entorno descrito más adelante puede ocurrir, pero no necesariamente, incluso cuando el evento o entorno que ha ocurrido o no. Tal como se utiliza en el presente documento, “” o “” utilizados en las fórmulas químicas de la presente descripción pueden estar unidos a cualquiera de uno o más grupos según el alcance de la invención descrita en el presente documento. Tal como se utiliza en el presente documento, en las estructuras químicas de los

compuestos de la presente descripción, el enlace “” representa una configuración no especificada, es decir, si hay un isómero quiral presente en la estructura química, el enlace “” puede ser “” o “” o ambas configuraciones “” y “”.

En una realización, los ARN modificados contemplados para su uso en los métodos y composiciones descritos en el presente documento son ácidos nucleicos peptídicos (PNA) que tienen la capacidad de formar la estructura de cadena doble requerida y que permiten o median la degradación específica de un ARN diana a través de una vía de RISC. En determinadas realizaciones de la invención, un agente de ARN de interferencia de la MAPT incluye un ARN monocatenario que interactúa con una secuencia diana de ARN de la MAPT para dirigir la escisión del ARN de la MAPT diana.

Las estructuras principales de ARN modificadas pueden incluir, por ejemplo, fosforotioatos, fosforotioatos quirales, fosforoditioatos, fosfotriésteres, aminoalquilfosfotriésteres, metilo y otros alquilfosfonatos, incluidos 3'-alquilenfosfonatos y fosfonatos quirales, fosfinatos, fosforamidatos que incluyen 3'-aminofosforamidato y aminoalquilfosforamidatos, tionofosforamidatos, tionoalquilfosfonatos, tionoalquilfosfotriésteres y boranofosfatos que tienen enlaces 3'-5' normales, análogos unidos 2'-5' de estos y aquellos que tienen polaridad invertida en donde los pares adyacentes de unidades de nucleósidos están unidos 3'-5' a 5'-3' o 2'-5' a 5'-2'. También se incluyen varias sales, sales mixtas y formas de ácido libre. En la técnica se utilizan de forma habitual medios para preparar enlaces que contienen fósforo, y dichos métodos se pueden utilizar para preparar determinados agentes de ARNbc de la MAPT modificados, determinados polinucleótidos antisentido de la MAPT modificados y/o determinados polinucleótidos sentido de la MAPT modificados de la invención.

Las estructuras principales de ARN modificadas que no incluyen un átomo de fósforo tienen estructuras principales que están formadas por enlaces internucleosídicos de alquilo o cicloalquilo de cadena corta, heteroátomos mixtos y enlaces internucleosídicos de alquilo o cicloalquilo, o uno o más enlaces internucleosídicos heteroatómicos o heterocíclicos de cadena corta. Estos incluyen aquellos que tienen enlaces morfolino (formados en parte a partir de la porción de azúcar de un nucleósido); estructuras principales de siloxano; estructuras principales de sulfuro, sulfóxido y sulfona; estructuras principales de formacetilo y tioformacetilo; estructuras principales de metilenformacetilo y tioformacetilo; estructuras principales que contienen alqueno; estructuras principales de sulfamato; estructuras principales de metilenimino y metilenhidrazino; estructuras principales de sulfonato y sulfonamida; estructuras principales de amida; y otras que tienen componentes mixtos de N, O, S y CH₂. En la técnica, se utilizan de forma habitual medios para preparar estructuras principales de ARN modificado que no incluyen

un átomo de fósforo, y dichos métodos se pueden utilizar para preparar determinados agentes de ARNbc de la MAPT modificados, determinados agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT modificados y/o determinados agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT modificados de la invención.

- 5 En determinadas realizaciones de la invención, los miméticos de ARN se incluyen en los ARNbc de la MAPT, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT, tales como, entre otros, reemplazo de los azúcares y el enlace internucleosídico, es decir, la estructura principal, de las unidades de nucleótidos con grupos novedosos. En dichas realizaciones, las unidades de base se mantienen para la hibridación con
10 un compuesto diana de ácido nucleico de la MAPT apropiado. Uno de dichos compuestos oligoméricos, un mimético de ARN que se ha demostrado que tiene excelentes propiedades de hibridación, se denomina ácido nucleico peptídico (PNA). En los compuestos de PNA, la estructura principal de azúcares de un ARN se reemplaza con una estructura principal que contiene amida, en particular, una estructura principal de aminoetilglicina. Las nucleobases se
15 retienen y se unen directa o indirectamente a los átomos de nitrógeno aza de la porción amida de la estructura principal. En la técnica, se utilizan de forma habitual medios para preparar miméticos de ARN y dichos métodos se pueden utilizar para preparar determinados agentes de ARNbc de la MAPT modificados de la invención.

- Algunas realizaciones de la invención incluyen ARN con estructuras principales de fosforotioato
20 y oligonucleósidos con estructuras principales de heteroátomo y, en particular, $-\text{CH}_2\text{-NH-CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{-N(CH}_3\text{)-O-CH}_2-$ [conocido como una estructura principal de metileno (metilimino) o MMI], $-\text{CH}_2\text{-O-N(CH}_3\text{)-CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{-N(CH}_3\text{)-N(CH}_3\text{)-CH}_2-$ y $-\text{N(CH}_3\text{)-CH}_2-$ [en donde la estructura principal de fosfodiéster natural se representa como $-\text{O-P-O-CH}_2-$]. En la técnica, se utilizan de forma habitual medios para preparar ARN con estructuras principales fosforotioato y
25 oligonucleósidos con estructuras principales de heteroátomos, y dichos métodos se pueden utilizar para preparar determinados agentes de ARNbc de la MAPT modificados, determinados agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o determinados agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT de la invención.

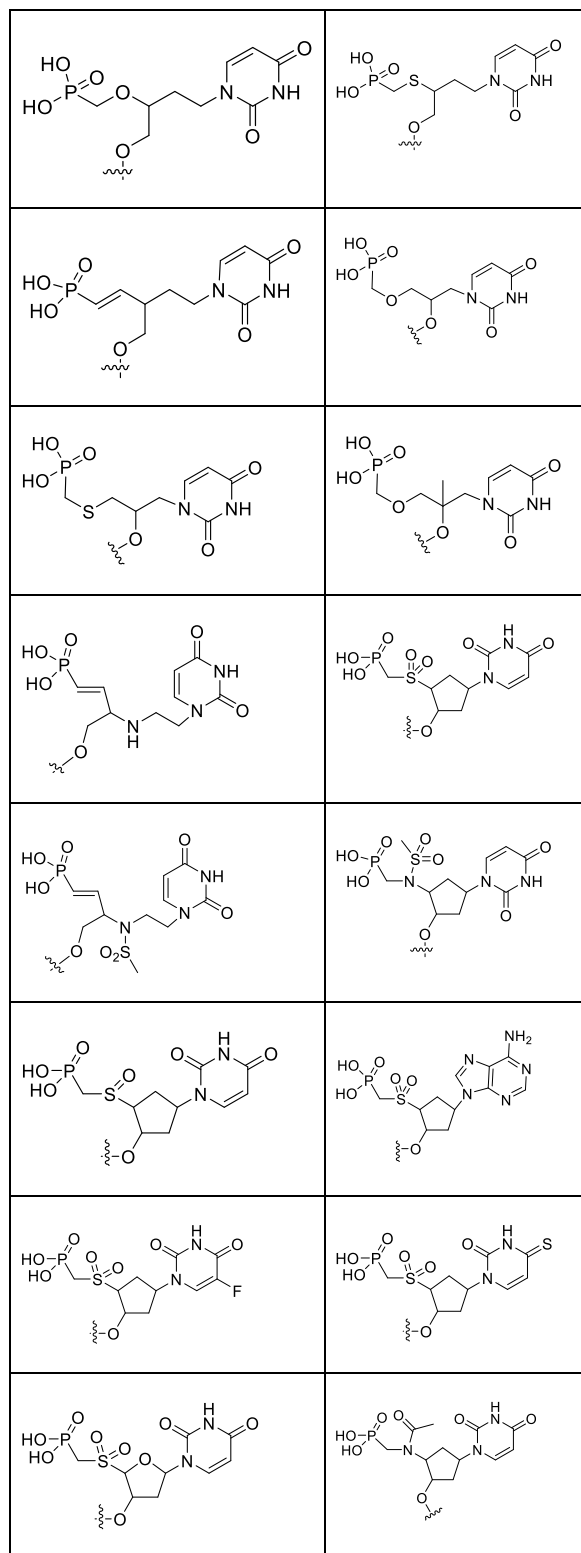
- Los ARN modificados también pueden contener una o más fracciones de azúcares sustituidos.
30 Los ARNbc de la MAPT, los agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o los agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT de la invención pueden comprender una de las siguientes en la posición 2': OH; F; O-, S- o N-alquilo; O-, S- o N-alquenilo; O-, S- o N-alquinilo; u O-alquil-O-alquilo, en donde el alquilo, alquenilo y alquinilo que pueden ser alquilo C_1 a C_{10} sustituido o no sustituido, o alquenilo y alquinilo C_2 a C_{10} . Los ejemplos de modificaciones

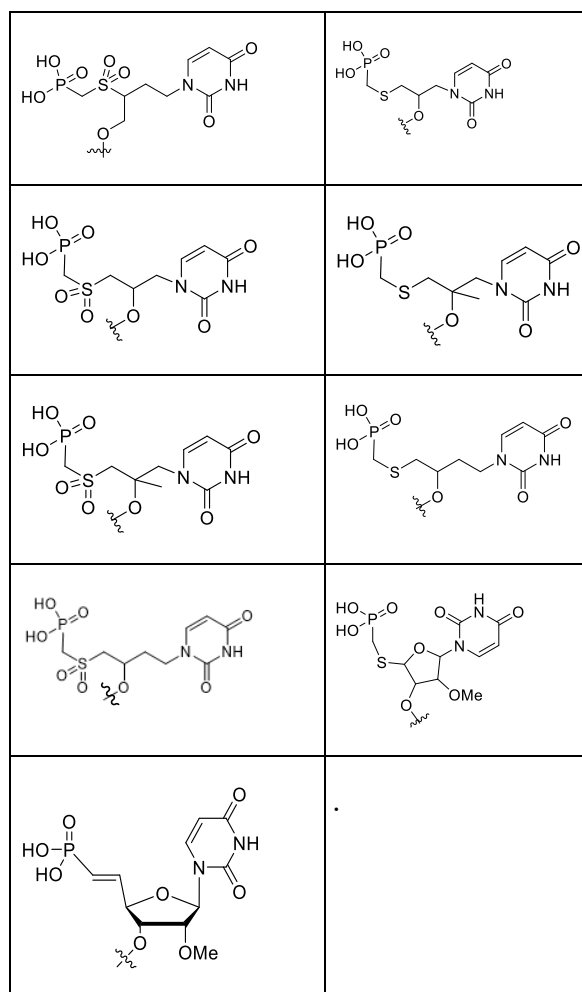
adecuadas incluyen $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$, $O(CH_2)_nOCH_3$, $O(CH_2)_nNH_2$, $O(CH_2)_nCH_3$, $O(CH_2)_nONH_2$ y $O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3]_2$, en donde n y m tienen un valor de 1 a aproximadamente 10. En otras realizaciones, los ARNbc incluyen uno de los siguientes en la posición 2': alquilo C_1 a C_{10} inferior, alquilo inferior sustituido, alcarilo, aralquilo, O-alcarilo u O-aralquilo, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, heterocicloalquilo, heterocicloalcarilo, aminoalquilamino, polialquilamino, sililo sustituido, un grupo de escisión de ARN, un grupo indicador, un intercalador, un grupo para mejorar las propiedades farmacocinéticas de un agente de ARNbc de la MAPT, o un grupo para mejorar las propiedades farmacodinámicas de un agente de ARNbc de la MAPT, un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT y/o un agente polinucleotídico sentido de la MAPT y otros sustituyentes que tienen propiedades similares. En algunas realizaciones, la modificación incluye un 2'-metoxietoxi (2'-O-CH₂CH₂OCH₃, también conocido como 2'-O-(2-metoxietilo) o 2'-MOE) (Martin *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504), es decir, un grupo alcoxi-alcoxi. Otro ejemplo de modificación es 2'-dimetilaminooxietoxi, es decir, un grupo $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$, también conocido como 2'-DMAOE, como se describe a continuación en los ejemplos de la presente descripción, y 2'-dimetilaminoetoxietoxi (también conocido en la técnica como 2'-O-dimetilaminoetoxietilo o 2'-DMAEOE), es decir, 2'-O-CH₂-O-CH₂-N(CH₂)₂. En la técnica, se utilizan de forma habitual medios para preparar ARN modificados, tales como los descritos, y dichos métodos se pueden utilizar para preparar determinados agentes de ARNbc de la MAPT modificados de la invención.

Otras modificaciones incluyen 2'-metoxi (2'-OCH₃), 2'-aminopropoxi (2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂) y 2'-fluoro (2'-F). También se pueden realizar modificaciones similares en otras posiciones en el ARN de un agente de ARNbc de la MAPT, agente polinucleotídico antisentido de la MAPT y/o agente polinucleotídico sentido de la MAPT de la invención, particularmente la posición 3' del azúcar en el nucleótido 3'-terminal o en los ARNbc de la MAPT, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT o agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT unidos en 2'-5', y la posición 5' del nucleótido 5'-terminal. Los agentes de ARNbc de la MAPT, los agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o los agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT también pueden tener miméticos de azúcares, tales como restos ciclobutilo, en lugar del azúcar pentofuranosilo. En la técnica se utilizan de forma habitual medios para preparar ARN modificados, tales como los descritos, y dichos métodos se pueden utilizar para preparar determinados agentes de ARNbc modificados de la MAPT, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT de la invención.

Tal como se utiliza en este documento, el término “5'-fosfato” o “mimético de 5'-fosfato” se refiere a un carbono 5' de un nucleótido modificado o reemplazado por un grupo fosfato o

análogos de fosfato. En algunas realizaciones de la invención, el ARNbc comprende un fosfato o un mimético de fosfato en el nucleótido 5'-terminal de la cadena guía, en donde el nucleósido 5'-terminal está representado por una de las siguientes estructuras específicas o estereoisómeros del mismo:





Un agente de ARNbc de la MAPT, un polinucleótido antisentido de la MAPT y/o un polinucleótido sentido de la MAPT pueden, en algunas realizaciones, incluir modificaciones o sustituciones de nucleobases (con frecuencia, denominadas en la técnica simplemente como “base”). Tal como se usa en el presente documento, las nucleobases “no modificadas” o

5 “naturales” incluyen las bases de purina adenina y guanina, y las bases de pirimidina timina, citosina y uracilo. Las nucleobases modificadas incluyen otras nucleobases sintéticas y naturales, tales como 5-metilcitosina (5-Me-C), 5-hidroximetilcitosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-metil y otros derivados alquílicos de adenina y guanina, 2-propil y otros derivados alquílicos de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2-tiocitosina, 5-halouracilo

10 y citosina, 5-propiniluracilo y citosina, 6-azouracilo, citosina y timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo, 8-amino, 8-tiol, 8-tioalquilo, 8-hidroxilo, y otras adeninas y guaninas 8-sustituidas, 5-halo, particularmente, 5-bromo, 5-trifluorometilo y otros uracilos y citosinas 5-sustituidos, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-deazaguanina y 7-azaadenina y 3-deazaguanina y 3-deazaadenina. En la técnica, se conocen nucleobases

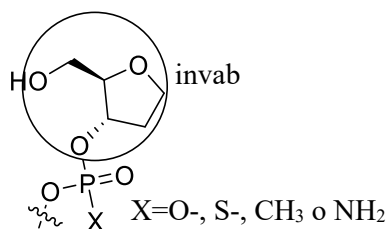
15 adicionales que se pueden incluir en determinadas realizaciones de los agentes de ARNbc de la MAPT de la invención: véase, por ejemplo, Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. Ed. Wiley-VCH, 2008; The Concise Encyclopedia

- Of Polymer Science And Engineering, páginas 858-859, Kroschwitz, J. L, Ed. John Wiley & Sons, 1990, English *et al.*, Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613, Sanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, páginas 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993. En la técnica se utilizan de forma habitual medios para preparar
- 5 ARNbc, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT que comprenden modificaciones y/o sustituciones de nucleobases, tales como las descritas en el presente documento, y dichos métodos se pueden utilizar para preparar determinados agentes de ARNbc de la MAPT, agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT modificados de la invención.
- 10 Determinadas realizaciones de agentes de ARNbc de la MAPT, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT de la invención incluyen ARN modificado para incluir uno o más ácidos nucleicos bloqueados (LNA). Un ácido nucleico bloqueado es un nucleótido con una fracción de ribosa modificada que comprende un
- 15 puente adicional que une los carbonos 2' y 4'. Esta estructura “bloquea” eficazmente la ribosa en la conformación estructural 3'-endo. La adición de ácidos nucleicos bloqueados en un agente de ARNbc de la MAPT, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT de la invención puede aumentar la estabilidad en suero y reducir los efectos inespecíficos (Elmen, J. *et al.*, (2005) Nucleic Acids Research 33(1):439-447; Mook, O R. *et al.*, (2007) Mol Canc Ther 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*, (2003) Nucleic
- 20 Acids Research 31(12):3185-3193). En la técnica se utilizan de forma habitual medios para preparar agentes de ARNbc, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT que comprenden uno o varios ácidos nucleicos bloqueados, y dichos métodos se pueden utilizar para preparar determinados agentes de ARNbc de la MAPT modificados de la invención.
- 25 Determinadas realizaciones de compuestos de ARNbc de la MAPT, polinucleótidos sentido y/o polinucleótidos antisentido de la invención incluyen al menos un nucleótido modificado, en donde el al menos un nucleótido modificado comprende: un 2'-O-metilnucleótido, 2' - fluoronucleótido, 2'-desoxinucleótido, mimético de nucleótido de 2'3'-seco, nucleótido bloqueado, 2'-F-arabinonucleótido, nucleótido de 2'-metoxietilo, nucleótido modificado con 2'-
- 30 amino, nucleótido modificado con 2'-alquilo, nucleótido mofolino y nucleótido de 3'-O-Me, un nucleótido que comprende un grupo 5'-fosforotioato o un nucleótido terminal unido a un derivado de colesterilo o grupo bisdecilamida de ácido dodecanoico, un nucleótido modificado con 2'-amino, un fosforamidato o una base no natural que comprende un nucleótido. En algunas realizaciones, un compuesto de ARNbc de la MAPT incluye un nucleótido de E-vinilfosfonato
- 35 en el extremo 5'-terminal de la cadena antisentido, también denominada cadena guía en el

presente documento.

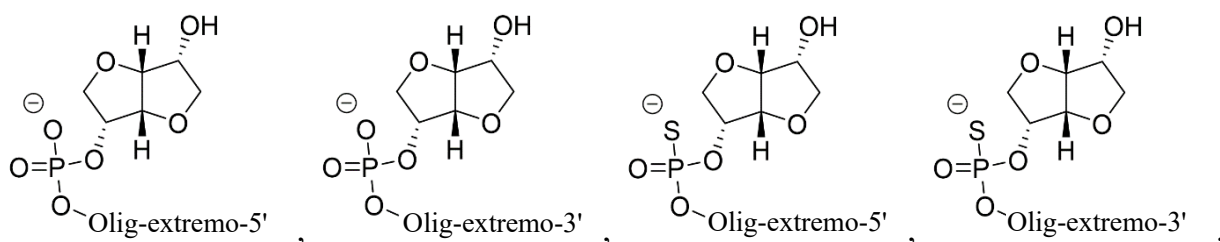
En determinadas realizaciones de compuestos de ARNbc de la MAPT, el extremo 3'-terminal y 5'-terminal de los agentes polinucleotídicos sentido y/o el extremo 3'-terminal de los agentes polinucleotídicos antisentido de la invención incluyen al menos un nucleótido modificado, en donde el al menos un nucleótido modificado comprende los siguientes: nucleótido abásico, ribitol, nucleótido invertido, nucleótido abásico invertido, nucleótido de 2'-O-Me invertido, 2'-desoxinucleótido invertido. Los expertos en la técnica saben que incluir un nucleótido abásico o abásico invertido al final del oligonucleótido mejora la estabilidad (Czauderna *et al.* Structural variations and stabilizing modifications of synthetic siRNAs in mammalian cells. Nucleic Acids Res. 2003; 31(11): 2705-2716. doi:10.1093/nar/gkg393). En algunas realizaciones, un compuesto de ARNbc de la MAPT incluye uno o más residuos abásicos invertidos (invab) en el extremo 3' o el extremo 5', o tanto en el extremo 3' como en el extremo 5'. Los residuos abásicos invertidos (invab) ejemplificados incluyen, entre otros, los siguientes:

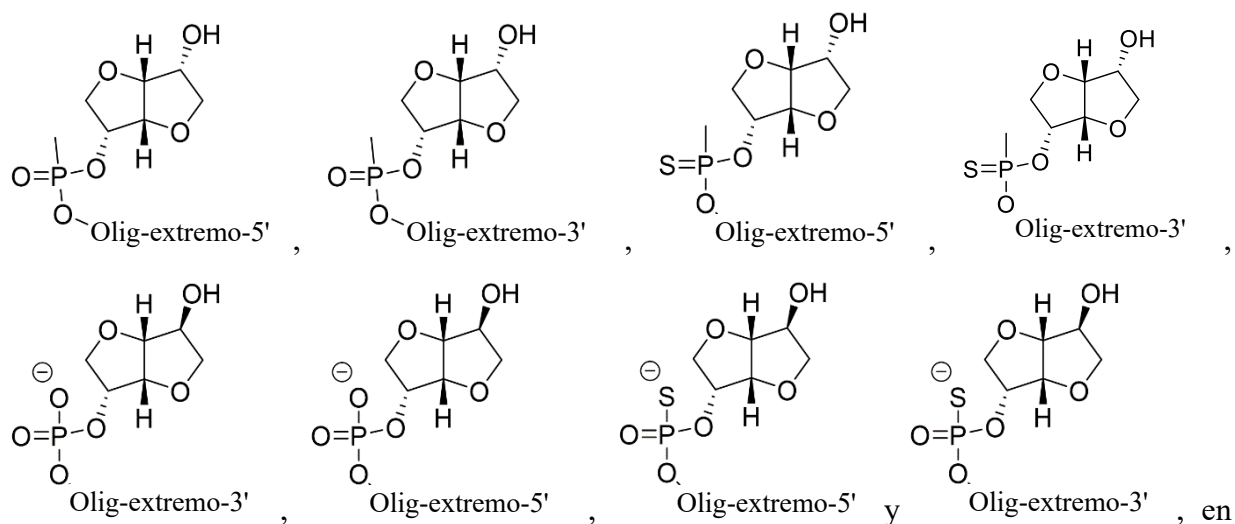
cuando está en el extremo 3'-terminal:



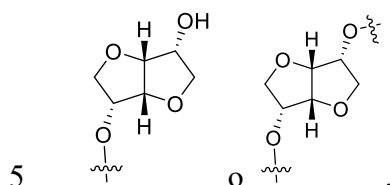
unido al extremo 3'-terminal del oligonucleótido

En determinadas realizaciones de compuestos de ARNbc de la MAPT, el extremo 3'-terminal y 5'-terminal de los agentes polinucleotídicos sentido y/o el extremo 3'-terminal de los agentes polinucleotídicos antisentido de la invención incluyen al menos un nucleótido modificado, en donde el al menos un nucleótido modificado comprende: nucleótido con isomanida o estereoisómero de dicho nucleótido con isomanida. Algunos ejemplos específicos de nucleótidos con isomanida o estereoisómeros de dichos nucleótidos con isomanida incluyen, entre otros:





donde la frase “Olig” representa independientemente una fracción de polinucleótido. Algunos ejemplos de residuos de isomanida (imann) incluyen, entre otros, los siguientes:

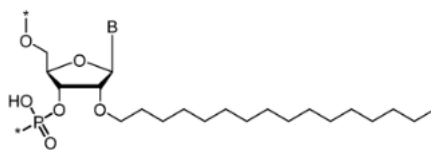


En determinadas realizaciones, los nucleótidos con isomanida pueden conjugarse, además, con uno o más grupos diana o moléculas de suministro, tales como fracciones de GalNAc.

En determinadas realizaciones de compuestos de ARNbc de la MAPT, los agentes polinucleotídicos antisentido de la invención incluyen al menos un nucleótido modificado, en donde al menos un nucleótido modificado comprende un nucleótido de ácido nucleico desbloqueado (UNA) y/o un nucleótido de ácido nucleico de glicol (GNA). Los expertos en la técnica saben que UNA y GNA son modificaciones químicas que desestabilizan la temperatura, que pueden mejorar significativamente el perfil inespecífico de un compuesto de ARNip (Janas, *et al.*, Selection of GalNAc-conjugated siRNAs with limited off-target-driven rat hepatotoxicity. Nat Commun. 2018; 9(1): 723. doi:10.1038/s41467-018-02989-4; Laursen *et al.*, Utilization of unlocked nucleic acid (UNA) to enhance siRNA performance *in vitro* and *in vivo*. Mol BioSyst. 2010; 6:862–70).

Determinadas realizaciones de compuestos de ARNbc de la MAPT incluyen al menos una fracción lipófila, en donde contiene una cadena de hidrocarburo C₁₆ saturada o insaturada (por ejemplo, un alquilo o alquenilo C₁₆ lineal). Una fracción lipófila incluida en cualquiera de las posiciones proporcionadas en la presente solicitud. En algunas realizaciones, la fracción lipófila se conjuga con una nucleobase, una fracción de azúcar o un enlace internucleosídico del agente de ARNi bicatenario. Por ejemplo, una fracción C₁₆ puede conjugarse a través del 2'-oxígeno de

un ribonucleótido, como se muestra en la siguiente estructura:



Tal como se utiliza en el presente documento, "lipófilo" o "fracción lipófila" se refiere en términos generales a cualquier compuesto o fracción química que tenga afinidad por los lípidos.

- 5 Una forma de caracterizar la lipofilicidad de la fracción lipófila es mediante el coeficiente de partición octanol-agua, logKow, en donde Kow es la relación entre la concentración de una sustancia química en la fase octanol y su concentración en la fase acuosa de un sistema de dos fases en equilibrio. El coeficiente de partición octanol-agua es una propiedad de una sustancia medida en el laboratorio. Sin embargo, también se puede predecir mediante el uso de coeficientes
- 10 atribuidos a los componentes estructurales de una sustancia química que se calculan utilizando métodos empíricos o de primeros principios (véase, por ejemplo, Tetko *et al.*, J. Chem. Inf. Comput. Sci. 41:1407-21 (2001), que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad). Proporciona una medida termodinámica de la tendencia de una sustancia a preferir un medio aceitoso o no acuoso en lugar de agua (es decir su equilibrio hidrófilo/lipófilo). En
- 15 principio, una sustancia química tiene carácter lipófilo cuando su logKow es superior a 0.

- Otra modificación que se puede incluir en el ARN de determinadas realizaciones de agentes de ARNbc de la MAPT, agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT de la invención comprende unir químicamente al ARN uno o más ligandos, fracciones o conjugados que mejoran una o más características del agente
- 20 de ARNbc de la MAPT, agente polinucleotídico antisentido de la MAPT y/o agente polinucleotídico sentido de la MAPT, respectivamente. Algunos ejemplos no limitantes de características que se pueden mejorar son los siguientes: actividad, distribución celular del agente de ARNbc de la MAPT, agente polinucleotídico antisentido de la MAPT y/o agente polinucleotídico sentido de la MAPT, suministro de un agente de ARNbc de la MAPT,
- 25 propiedades farmacocinéticas de un agente de ARNbc de la MAPT y captación celular del agente de ARNbc de la MAPT. En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT comprende uno o más grupos diana o grupos de enlace, que en determinadas realizaciones de los agentes de ARNbc de la MAPT de la invención se conjugan con la cadena sentido. Un ejemplo no limitante de un grupo diana es un compuesto que comprende N-acetilgalactosamina
- 30 (GalNAc). Un ejemplo no limitante de un grupo diana es un compuesto que comprende una fracción lipófila. Los términos "grupo diana", "agente diana", "agente de enlace", "compuesto diana", "molécula de suministro", "compuesto de suministro" y "ligando diana" se pueden usar

indistintamente en el presente documento. En determinadas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT comprende un compuesto diana que está conjugado con el extremo 5'-terminal de la cadena sentido. En determinadas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT comprende un compuesto diana que está conjugado con el extremo 3'-terminal de la cadena sentido. En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT comprende un grupo diana que comprende GalNAc. En determinadas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT no incluye un compuesto diana conjugado con el extremo 3'-terminal y el extremo 5'-terminal, o con ambos, de la cadena sentido. En determinadas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT no incluye un compuesto diana que contiene GalNAc conjugado con el extremo 5'-terminal y el extremo 3'-terminal, o con ambos, de la cadena sentido.

Los agentes diana y de enlace adicionales son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, los agentes diana y de enlace que se pueden usar en determinadas realizaciones de la invención incluyen, entre otros, restos lipídicos, tales como una fracción de colesterol (Letsinger *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86: 6553-6556), ácido cólico (Manoharan *et al.*, Biorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4:1053-1060), un tioéter, p. ej., beril-S-tritiltiol (Manoharan *et al.*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306-309; Manoharan *et al.*, Biorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3:2765-2770), un tiocolesterol (Oberhauser *et al.*, Nucl. Acids Res., 1992, 20:533-538), una cadena alifática, p. ej., residuos de dodecandiol o undecilo (Saison-Behmoaras *et al.*, EMBO J, 1991, 10:1111-1118; Kabanov *et al.*, FEBS Lett., 1990, 259:327-330; Svinarchuk *et al.*, Biochimie, 1993, 75:49-54), un fosfolípido, p. ej., di-hexadecil-rac-glicerol o 1,2-di-O-hexadecil-rac-glicero-3-fosfonato de trietil-amonio (Manoharan *et al.*, Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654; Shea *et al.*, Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777-3783), una poliamina o una cadena de polietilenglicol (Manoharan *et al.*, Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14:969-973) o ácido adamantano acético (Manoharan *et al.*, Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654), una fracción de palmitilo (Mishra *et al.*, Biochem. Biophys. Acta, 1995, 1264:229-237) o una fracción de octadecilamina o hexilamino-carboniloxicolessterol (Crooke *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923-937).

Determinadas realizaciones de una composición que comprende un agente de ARNbc de la MAPT, un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT y/o un agente polinucleotídico sentido de la MAPT pueden comprender un ligando que altera la distribución, la selección como diana, etc. del agente de ARNbc de la MAPT. En algunas realizaciones de una composición que comprende un agente de ARNbc de la MAPT de la invención, la presencia del ligando aumenta la afinidad por una diana seleccionada, por ejemplo, una molécula, célula o un tipo celular, un compartimento, por ejemplo, un compartimento celular o de un órgano, un tejido, órgano o región del cuerpo, por ejemplo, en comparación con la ausencia de dicho ligando. Un ligando

- útil en una composición y/o un método de la invención puede ser una sustancia de origen natural, tal como una proteína (p. ej., albúmina sérica humana [HSA], lipoproteína de baja densidad [LDL] o globulina); un carbohidrato (p. ej., un dextrano, pululano, quitina, quitosano, inulina, ciclodextrina o ácido hialurónico); o un lípido. Un ligando también puede ser una molécula
- 5 recombinante o sintética, tal como un polímero sintético, por ejemplo, un poliaminoácido sintético o poliamina. Algunos ejemplos de poliaminoácidos son polilisina (PLL), poli (ácido L-aspartico), poli (ácido L-glutámico), copolímero de estireno-anhídrido de ácido maleico, copolímero de poli (L-láctido-co-glicolizado), copolímero de divinil éter-anhídrido maleico, copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HMPA), polietilenglicol (PEG), alcohol
- 10 polivinílico (PVA), poliuretano, poli (ácido 2-etilacrílico), polímeros de N-isopropilacrilamida o polifosfazina. Algunos ejemplos de poliaminas incluyen las siguientes: polietilenimina, polilisina (PLL), espermina, espermidina, poliamina, pseudopéptido-poliamina, poliamina peptidomimética, poliamina dendrímica, arginina, amidina, protamina, lípido catiónico, porfirina catiónica, sal cuaternaria de una poliamina o un péptido alfa helicoidal.
- 15 Un ligando incluido en una composición y/o un método de la invención puede comprender un grupo diana, cuyos ejemplos no limitantes son un agente diana celular o tisular, por ejemplo, una lectina, glicoproteína, lípido o proteína, por ejemplo, un anticuerpo que se une a un tipo de célula específico, tal como una célula renal o una célula hepática. Un grupo diana puede ser una tirotropina, melanotropina, lectina, glicoproteína, proteína tensioactiva A, carbohidrato de
- 20 mucina, lactosa multivalente, galactosa multivalente, N-acetil-galactosamina, N-acetil-glucosamina, manosa multivalente, fucosa multivalente, poliaminoácidos glicosilados, galactosa multivalente, transferrina, bisfosfonato, poliglutamato, poliaspartato, un lípido, colesterol, un esteroide, ácido biliar, folato, vitamina B12, vitamina A, biotina o un péptido RGD o mimético de péptido RGD.
- 25 Otros ejemplos de ligandos incluyen colorantes, agentes intercalantes (por ejemplo, acridinas), reticulantes (por ejemplo, psoraleno, mitomicina C), porfirinas (TPPC4, texafirina, sapfirina), hidrocarburos aromáticos policíclicos (por ejemplo, fenazina, dihidrofenazina), endonucleasas artificiales (por ejemplo, EDTA), moléculas lipófilas, por ejemplo, colesterol, ácido cólico, ácido adamantano acético, ácido 1-pirenobutírico, dihidrotestosterona, 1,3-bis-O(hexadecil)glicerol,
- 30 grupo geraniloxihexilo, hexadecilglicerol, borneol, mentol, 1,3-propanodiol, grupo heptadecilo, ácido palmítico, ácido mirístico, ácido O3-(oleoil)litocólico, ácido O3-(oleoil)colénico, dimetoxitritilo o fenoxazina) y conjugados peptídicos (por ejemplo, péptido antenapedia, péptido Tat), agentes alquilantes, fosfato, amino, mercapto, PEG (por ejemplo, PEG-40K), MPEG, [MPEG]₂, poliamino, alquilo, alquilo sustituido, radiomarcadores, enzimas, haptenos
- 35 (por ejemplo, biotina), facilitadores del transporte/de la absorción (por ejemplo, aspirina,

vitamina E, ácido fólico), ribonucleasas sintéticas (por ejemplo, imidazol, bisimidazol, histamina, grupos de imidazol, conjugados de acridina-imidazol, complejos Eu^{3+} de tetraazamacrociclos), dinitrofenilo, HRP o AP.

Un ligando incluido en una composición y/o un método de la invención puede ser una proteína, por ejemplo, una glicoproteína o un péptido, por ejemplo, una molécula con una afinidad específica por un coligando, o un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo que se une a un tipo de célula específico, tal como una célula cancerosa, célula endotelial, célula cardíaca o célula ósea.

Un ligando útil en una realización de una composición y/o un método de la invención puede ser una hormona o un receptor hormonal. Un ligando útil en una realización de una composición y/o

un método de la invención puede ser un lípido, lectina, carbohidratos, vitamina, cofactores, lactosa multivalente, galactosa multivalente, N-acetil-galactosamina, N-acetilglucosamina manosa multivalente o fucosa multivalente. Un ligando útil en una realización de una composición y/o un método de la invención puede ser una sustancia que puede aumentar la captación del agente de ARNbc de la MAPT en la célula, por ejemplo, mediante la alteración del citoesqueleto de la célula, por ejemplo, alteración de los microtúbulos, microfilamentos y/o filamentos intermedios de la célula. Algunos ejemplos no limitantes de este tipo de agente son los siguientes: taxanos, vincristina, vinblastina, citocalasina, nocodazol, japlakinolida, latrunculina A, faloidina, swinholida A, indanocina y mioservina.

En algunas realizaciones, un ligando unido a un agente de ARNbc de la MAPT de la invención funciona como un modulador farmacocinético (PK). Un ejemplo de un modulador PK que se puede usar en las composiciones y los métodos de la invención incluye, entre otros: un lipófilo, un ácido biliar, un esteroide, un análogo de fosfolípido, un péptido, un agente de unión a proteínas, PEG, una vitamina, colesterol, un ácido graso, ácido cólico, ácido litocólico, dialquilglicéridos, diacilglicérido, un fosfolípido, un esfingolípido, naproxeno, ibuprofeno, vitamina E, biotina, un aptámero que se une a una proteína sérica, etc. También se sabe que los oligonucleótidos que comprenden una serie de enlaces fosforotioato se unen a la proteína sérica, por lo que los oligonucleótidos cortos, por ejemplo, oligonucleótidos de aproximadamente 5 bases, 10 bases, 15 bases o 20 bases, que comprenden múltiples enlaces fosforotioato en la estructura principal también se pueden usar en las composiciones y/o los métodos de la invención como ligandos.

Composiciones de agentes de ARNbc de la MAPT

En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT es parte de una composición. Una composición de la invención puede incluir uno o más agentes de ARNbc de

la MAPT y, opcionalmente, uno o más de un vehículo farmacéuticamente aceptable, un agente de suministro, un agente diana, un marcador detectable, etc. Un ejemplo no limitante de un agente diana que puede ser útil de acuerdo con algunas realizaciones de los métodos de la invención es un agente que dirige un agente de ARNbc de la MAPT de la invención hacia y/o al interior de una célula que se va a tratar. Un agente diana de preferencia dependerá de elementos tales como la naturaleza de la enfermedad o afección asociada al MAPT y del tipo de célula que se define como diana. En un ejemplo no limitante, en algunas realizaciones de la invención puede ser deseable dirigir un agente de ARNbc de la MAPT hacia y/o al interior de una célula hepática. Se entenderá que en algunas realizaciones de los métodos de la invención, un agente terapéutico comprende un agente de ARNbc de la MAPT con solo un agente de suministro, tal como un agente de suministro que comprende N-acetilgalactosamina (GalNAc), sin ningún otro elemento unido. Por ejemplo, en algunos aspectos de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT puede unirse a un compuesto de suministro que comprende GalNAc e incluirse en una composición que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y administrarse a una célula o sujeto sin ningún marcador detectable o agentes diana, etc., unidos al agente de ARNbc de la MAPT.

En los casos en que un agente de ARNbc de la MAPT de la invención se administra con uno o más agentes de suministro, agentes diana, agentes marcación, etc. y/o se une a ellos, un experto en la técnica sabrá reconocerlo y podrá seleccionar y usar agentes adecuados para su uso en los métodos de la invención. Los agentes de marcación se pueden usar en ciertos métodos de la invención para determinar la ubicación de un agente de ARNbc de la MAPT en células y tejidos y se pueden usar para determinar la ubicación de una célula, tejido u órgano de una composición de tratamiento que comprende un agente de ARNbc de la MAPT que se ha administrado en los métodos de la invención. Los procedimientos para unir y utilizar agentes de marcación, tales como marcadores enzimáticos, colorantes, radiomarcadores, etc., son bien conocidos en la técnica. Se entenderá que en algunas realizaciones de las composiciones y métodos de la invención, un agente de marcación se une a uno o ambos de un agente polinucleotídico sentido y un agente polinucleotídico antisentido incluidos en un agente de ARNbc de la MAPT.

Suministro de agentes de ARNbc de la MAPT y agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT

Determinadas realizaciones de los métodos de la invención incluyen el suministro de un agente de ARNbc de la MAPT a una célula. Tal como se usa en el presente documento, el término “suministro o administración” significa facilitar o efectuar la captación o absorción en la célula. La absorción o captación de un agente de ARNbc de la MAPT puede producirse a través de procesos celulares difusivos sin ayuda o activos, o mediante el uso de agentes de suministro,

agentes diana, etc. que pueden estar asociados con un agente de ARNbc de la MAPT de la invención. Los medios de administración que son adecuados para su uso en los métodos de la invención incluyen, entre otros: suministro *in vivo*, en la que se inyecta un agente de ARNbc de la MAPT en un tejido o se administra por vía sistémica. En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT se une a un agente de suministro.

Algunos ejemplos no limitantes de métodos que se pueden utilizar para suministrar agentes de ARNbc de la MAPT a células, tejidos y/o sujetos incluyen los siguientes: conjugados de ARNbc de la MAPT-GalNAc, tecnología SAMiRNA, métodos de suministro basados en LNP y suministro de ARN desnudo. Estos y otros métodos de suministro se han utilizado con éxito en la técnica para suministrar agentes terapéuticos de ARNi para el tratamiento de diversas enfermedades y afecciones, tales como, entre otras, enfermedades hepáticas, porfiria aguda intermitente (AIP), hemofilia, fibrosis pulmonar, etc. Los detalles de los diversos medios de entrega se encuentran en publicaciones como Nikam, R.R. & K. R. Gore (2018) *Nucleic Acid Ther*, 28 (4), 209-224 Aug 2018; Springer A.D. & S.F. Dowdy (2018) *Nucleic Acid Ther*. Jun 1; 28(3):109-118; Lee, K. *et al.*, (2018) *Arch Pharm Res*, 41(9):867-874; y Nair, J.K. *et al.*, (2014) *J. Am. Chem. Soc.* 136:16958-16961, cuyo contenido se incorpora en el presente documento como referencia.

Algunas realizaciones de la invención comprenden el uso de nanopartículas lipídicas (LNP) para suministrar un agente de ARNbc de la MAPT de la invención a una célula, un tejido y/o un sujeto.

Las LNP se utilizan habitualmente para la administración *in vivo* de agentes de ARNbc de la MAPT, incluidos los agentes terapéuticos de ARNbc de la MAPT. Un beneficio de usar una LNP u otro agente de suministro es una mayor estabilidad del agente de ARN de la MAPT cuando se administra a un sujeto usando la LNP u otro agente de suministro. En algunas realizaciones de la invención, una LNP comprende una LNP catiónica que está cargada con una o más moléculas de ARNi de la MAPT de la invención. La LNP que comprende la o las moléculas de ARNi de la MAPT se administran a un sujeto, las LNP y sus moléculas de ARNi de la MAPT unidas son captadas por las células a través de la endocitosis, su presencia da como resultado la liberación de moléculas desencadenantes de ARNi, que median en la ARNi.

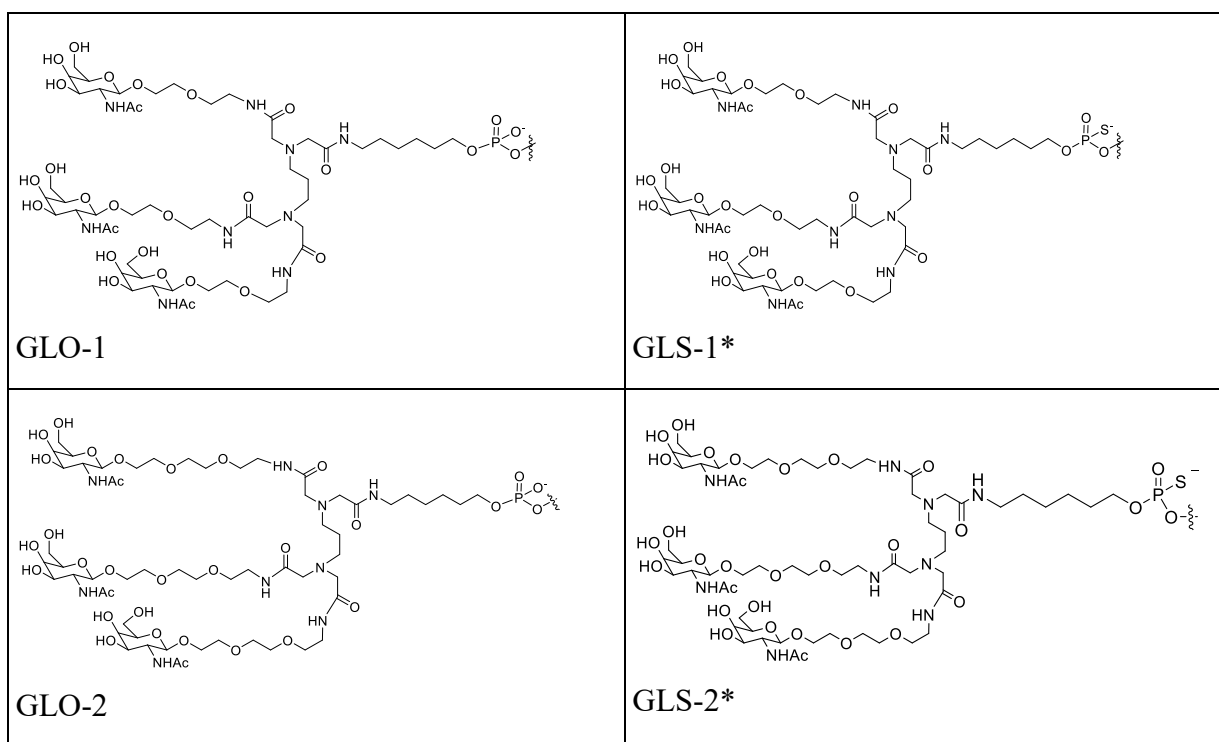
Otro ejemplo no limitante de un agente de suministro que se puede utilizar en realizaciones de la invención para suministrar un agente de ARNbc de la MAPT de la invención a una célula, un tejido y/o un sujeto es un agente que comprende GalNAc que está unido a un agente de ARNbc de la MAPT de la invención y suministra el agente de ARNbc de la MAPT a una célula, tejido y/o sujeto. En la solicitud PCT WO2020191183A1 (incorporada en el presente documento en su totalidad), se describen ejemplos de determinados agentes de suministro adicionales que

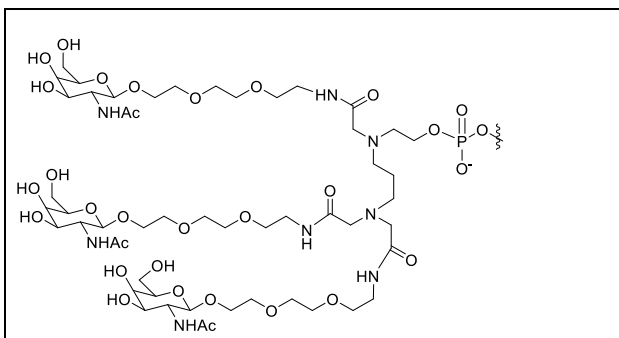
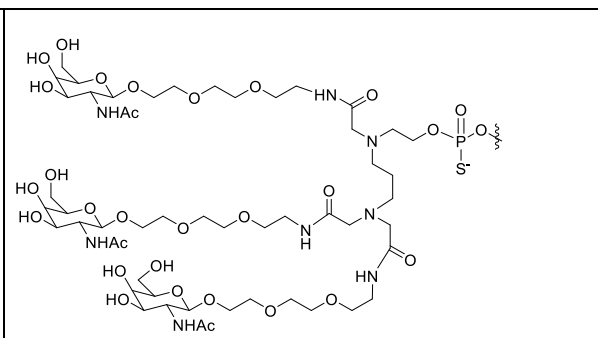
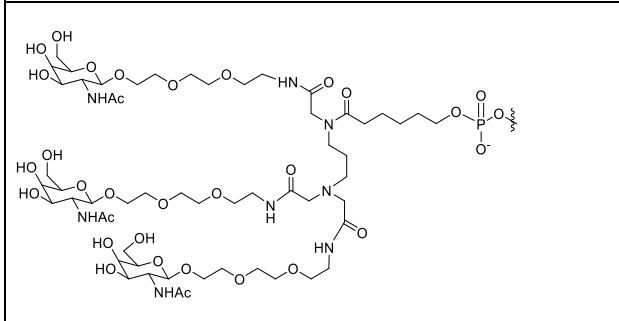
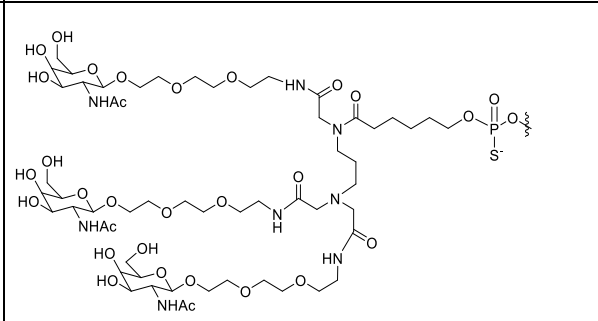
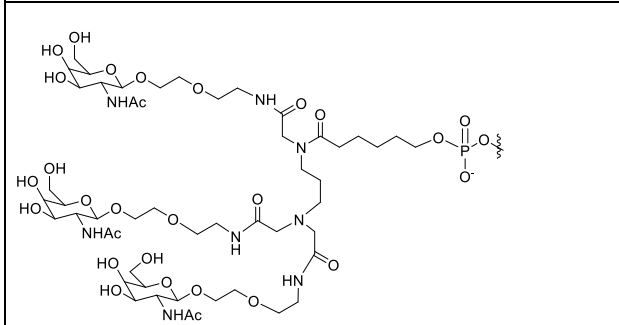
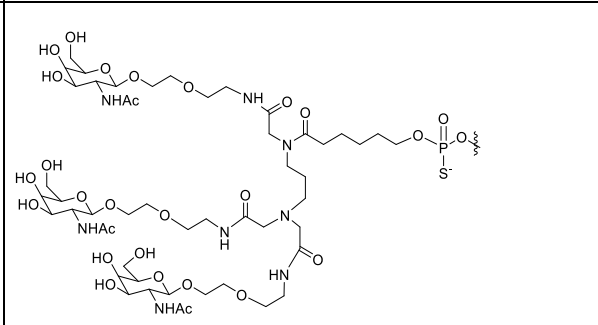
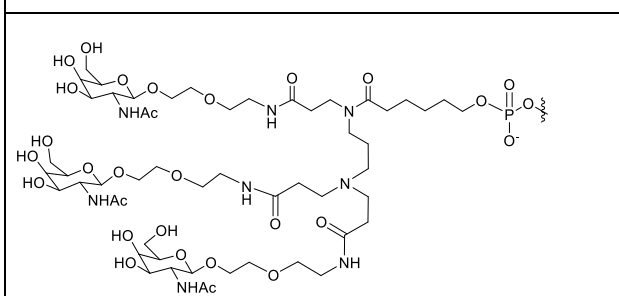
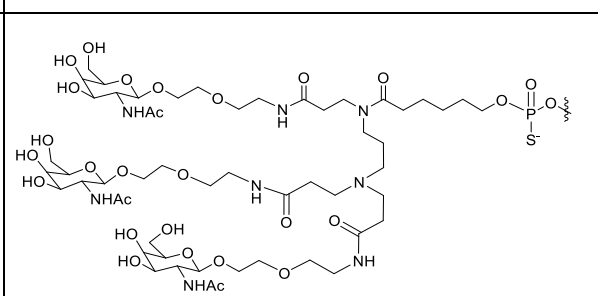
comprenden GalNAc que pueden usarse en determinadas realizaciones de métodos y composición de la invención. Un ejemplo no limitante de un ligando dirigido a GalNAc que se puede utilizar en las composiciones y métodos de la invención para suministrar el agente de ARNbc de la MAPT a una célula es un grupo de ligandos diana. Algunos ejemplos de grupos de

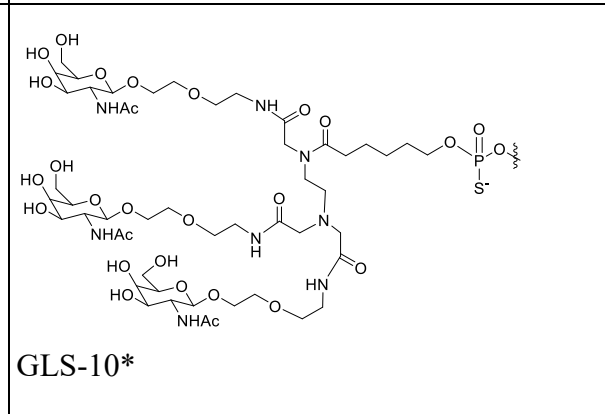
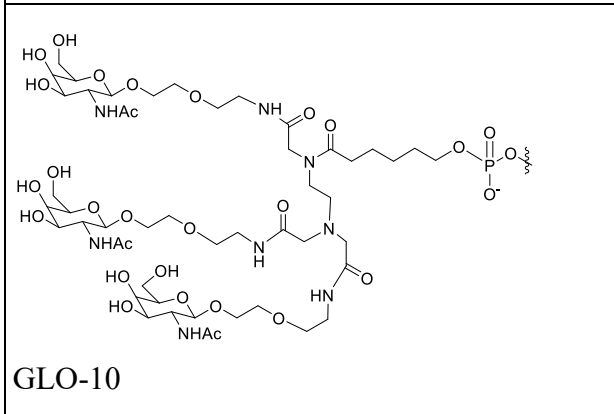
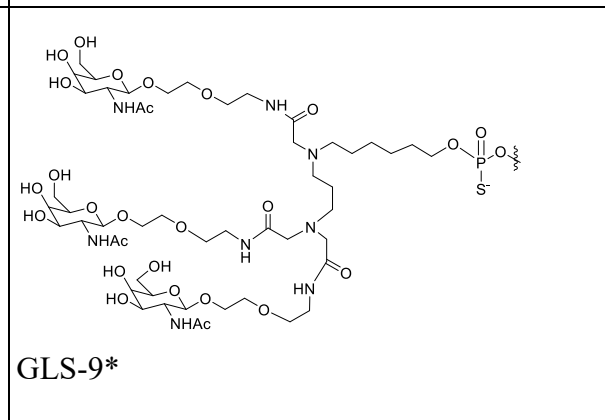
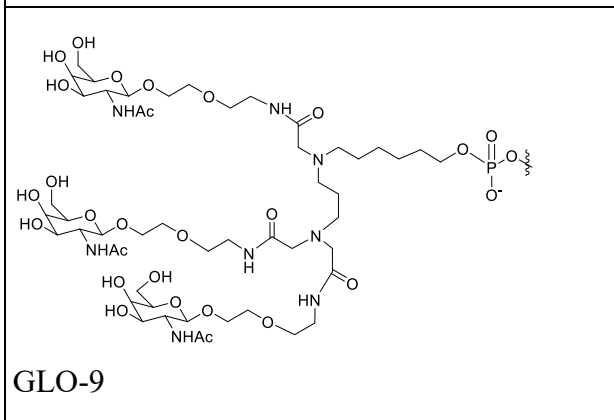
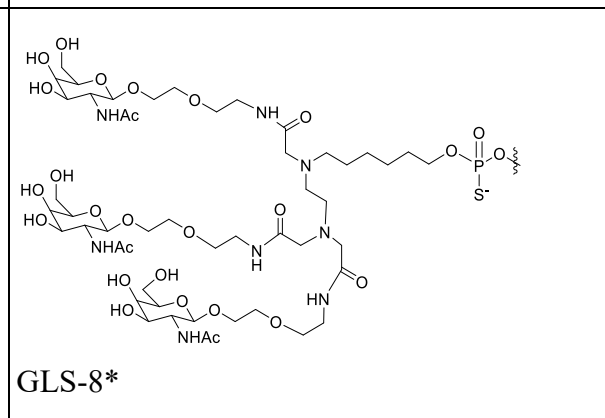
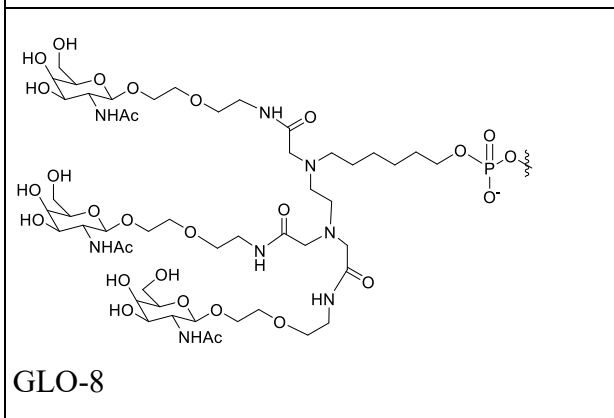
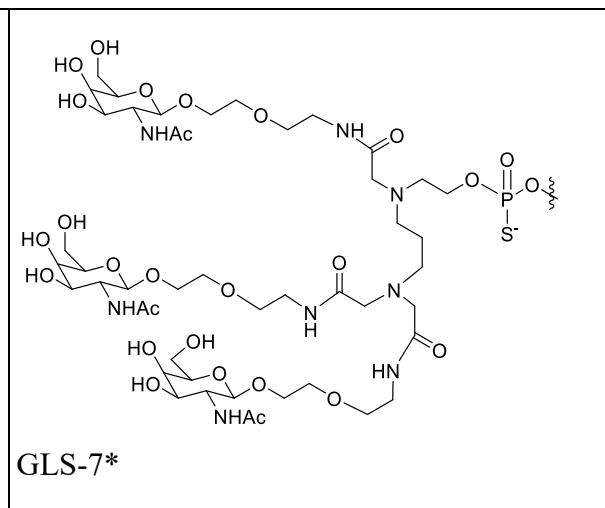
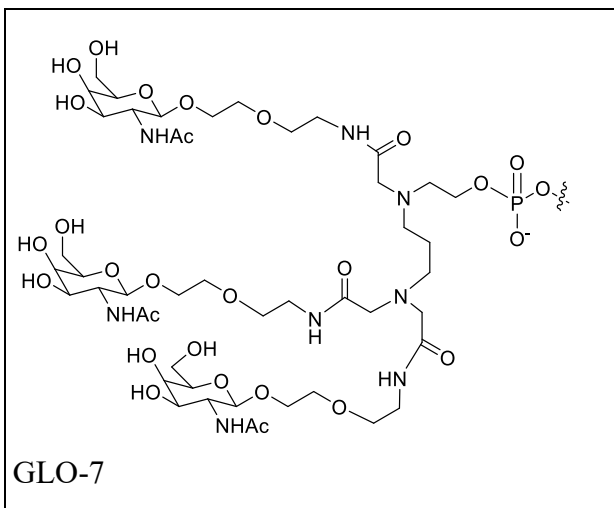
5 ligandos diana que se presentan en el presente documento se denominan: ligando GalNAc con enlace fosfodiéster (GLO) y ligando GalNAc con enlace fosforotioato (GLS). El término “GLX-n” puede usarse en el presente documento para indicar que el compuesto que contiene GalNAc adjunto es cualquiera de los compuestos GLS-1*, GLS-2*, GLS-3*, GLS-4*, GLS-5*, GLS-6*, GLS-7*, GLS-8*, GLS-9*, GLS-10*, GLS-11*, GLS-12*, GLS-13*, GLS-14*, GLS-15*, GLS-16*, GLO-1, GLO-2, GLO-3, GLO-4, GLO-5, GLO-6, GLO-7, GLO-8, GLO-9, GLO-10, GLO-11, GLO-12, GLO-13, GLO-14, GLO-15 y GLO-16, cuya estructura se muestra a continuación, con la ubicación de la unión del ligando dirigido a GalNAc a un agente de ARNi de la invención en el extremo derecho de cada uno (que se muestra con “{”). Se entenderá que cualquier molécula de ARNi y ARNbc de la invención pueden estar unidas a GLS-1*, GLS-2*, GLS-3*, GLS-4*, GLS-5*, GLS-6*, GLS-7*, GLS-8*, GLS-9*, GLS-10*, GLS-11*, GLS-12*, GLS-13*, GLS-14*, GLS-15*, GLS-16*, GLO-1, GLO-2, GLO-3, GLO-4, GLO-5, GLO-6, GLO-7, GLO-8, GLO-9, GLO-10, GLO-11, GLO-12, GLO-13, GLO-14, GLO-15, y GLO-16; las estructuras de GLO-1 a GLO-16 y GLS-1* a GLS-16* se muestran a continuación.

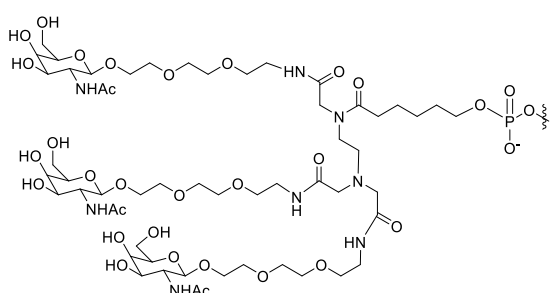
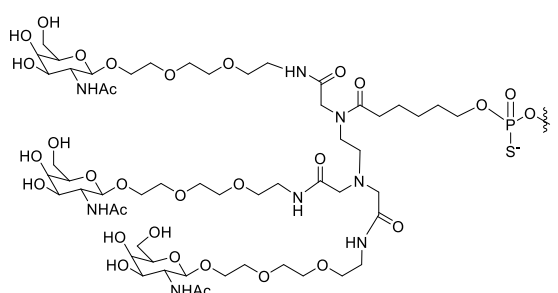
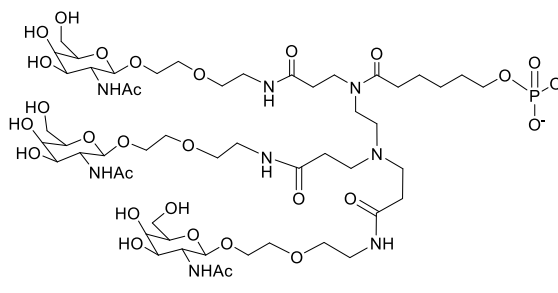
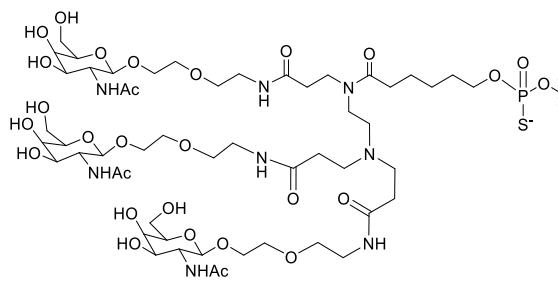
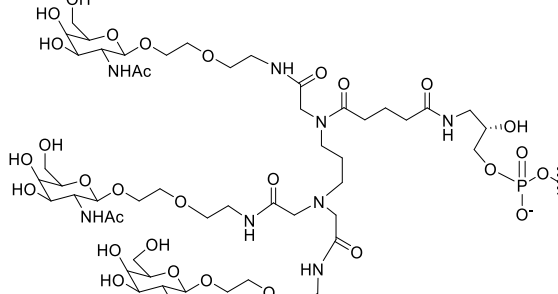
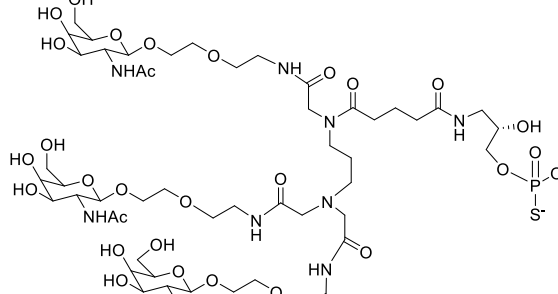
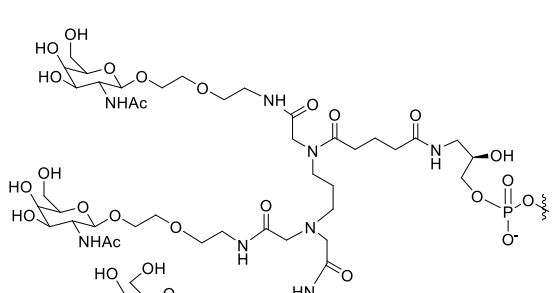
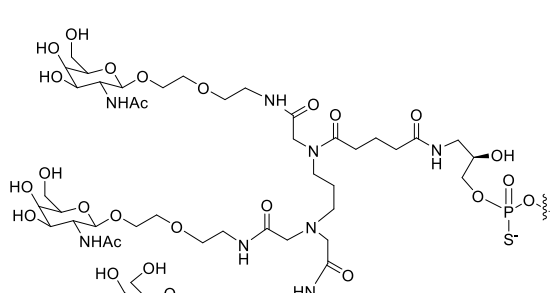
10

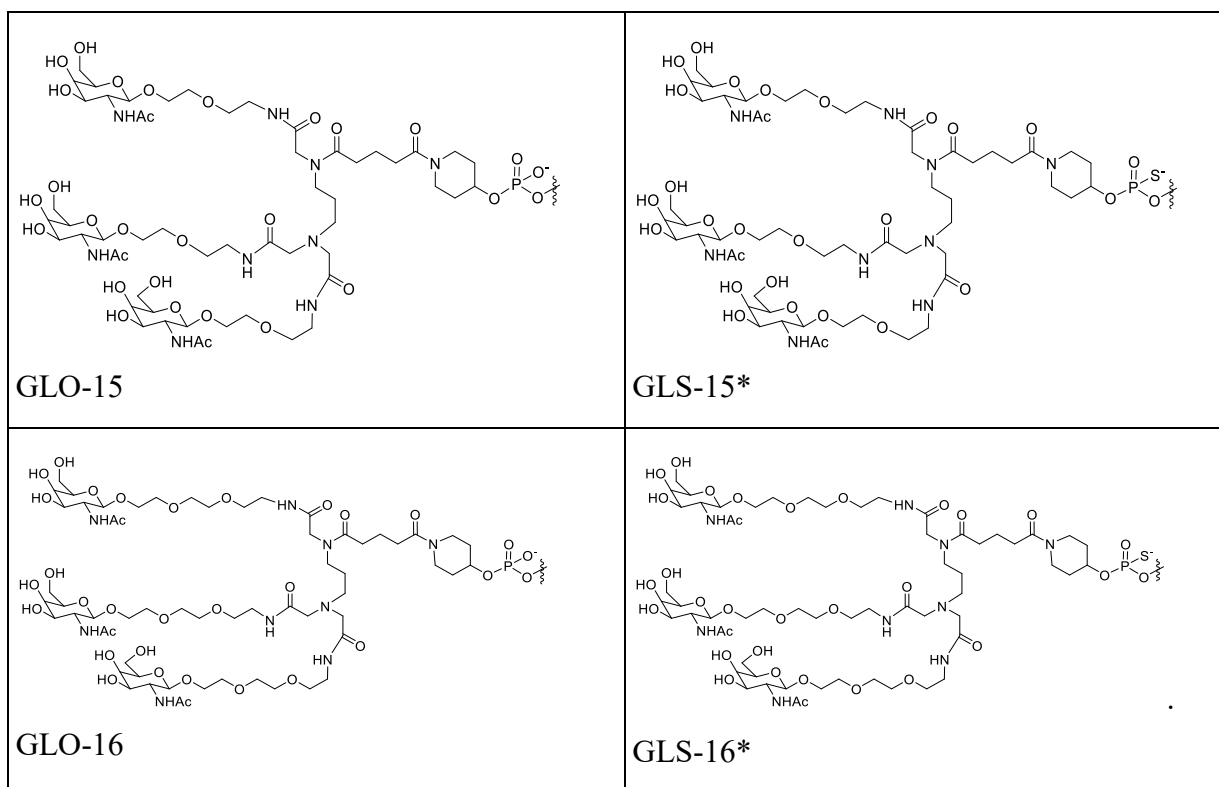
15



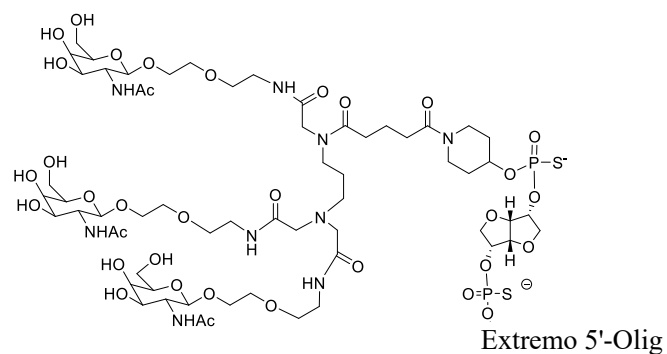
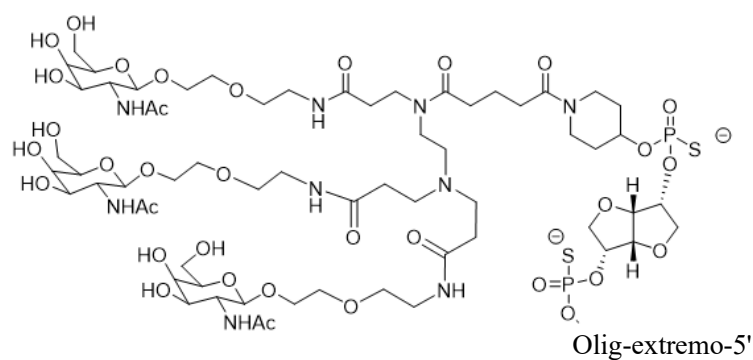
 GLO-3	 GLS-3*
 GLO-4	 GLS-4*
 GLO-5	 GLS-5*
 GLO-6	 GLS-6*



 GLO-11	 GLS-11*
 GLO-12	 GLS-12*
 GLO-13	 GLS-13*
 GLO-14	 GLS-14*



En determinadas realizaciones, los nucleótidos con isomanida mencionados anteriormente pueden conjugarse además con uno o más ligandos dirigidos a GalNAc. Algunos ejemplos específicos de nucleótidos con isomanida conjugados con un ligando dirigido a GalNAc incluyen, entre otros:



, en donde la frase "olig" representa independientemente una fracción de polinucleótido.

En algunas realizaciones de la invención, el suministro *in vivo* también puede realizarse mediante un sistema de suministro de beta-glucano, como los descritos en la patente de EE. UU. N.º 5 032 401 y 5 607 677 y la publicación de EE.UU. N.º 2005/0281781, que se incorporan al presente documento como referencia en su totalidad. La introducción *in vitro* de un agente de ARNi de la MAPT en una célula también puede realizarse utilizando métodos conocidos en la técnica, como la electroporación y la lipofección. En determinadas realizaciones de los métodos de la invención, se administra un ARNbc de la MAPT sin un agente diana. Estos ARN pueden suministrarse como moléculas de ARN “desnudas”. Como ejemplo no limitante, se puede administrar un ARNbc de la MAPT de la invención a un sujeto para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto, tal como una enfermedad cardiovascular, como parte de una composición farmacéutica que comprende el agente de ARNi, pero que no incluye un agente diana, tal como un compuesto dirigido a GalNAc.

Además de ciertos medios de suministro descritos en el presente documento, se entenderá que los medios de suministro de ARNi, tales como, entre otros, los descritos en el presente documento y los utilizados en la técnica, se pueden usar junto con realizaciones de agentes de ARNi de la MAPT y los métodos de tratamiento descritos en el presente documento.

Los agentes de ARNbc de la MAPT de la invención se pueden administrar a un sujeto en una cantidad y de una manera eficaces para reducir el nivel y la actividad del polipéptido de la MAPT en una célula y/o un sujeto. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, uno o más agentes de ARNbc de la MAPT se administran a una célula y/o un sujeto para tratar una enfermedad o afección asociada con la expresión y actividad de la MAPT. Los métodos de la invención, en algunas realizaciones, incluyen administrar uno o más agentes de ARNbc de la MAPT a un sujeto que necesita dicho tratamiento para tratar una enfermedad o afección asociada con la expresión de la MAPT en el sujeto. Los agentes de ARNbc de la MAPT o los agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT de la invención se pueden administrar para reducir la expresión y/o actividad de la MAPT en una o más células *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*.

En algunas realizaciones de la invención, se reduce el nivel y, por lo tanto, la actividad del polipéptido MAPT en una célula mediante el suministro (por ejemplo, la introducción) de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT en una célula. Se pueden utilizar agentes y métodos diana para facilitar la administración de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT a un tipo de célula, subtipo de célula, órgano o región espacial específicos en un sujeto y/o a una región subcelular dentro de una célula. Un agente de ARNbc de la MAPT se puede administrar en ciertos métodos de la invención de forma individual o en combinación con uno o más agentes de ARNbc de la

MAPT adicionales. En algunas realizaciones, se administran a un sujeto 2, 3, 4 o más agentes de ARNbc de la MAPT seleccionados independientemente.

En determinadas realizaciones de la invención, se administra un agente de ARNbc de la MAPT a un sujeto para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT junto con uno o más

5 regímenes terapéuticos adicionales para tratar la enfermedad o afección asociada a la MAPT.

Algunos ejemplos no limitantes de regímenes terapéuticos adicionales son los siguientes:

administración de uno o más agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT de la invención,

administración de un agente terapéutico que no está basado en ARNbc de la MAPT y una

modificación de la conducta. Se puede administrar un régimen terapéutico adicional en un

10 momento que sea uno o más de los siguientes: antes, simultáneamente o después de la

administración de un agente de ARNbc de la MAPT de la invención. Se entenderá que

simultáneamente con como se usa en el presente documento, dentro de los cinco minutos a partir

del tiempo cero, dentro de los 10 minutos a partir del tiempo cero, dentro de los 30 minutos a

partir del tiempo cero, dentro de los 45 minutos a partir del tiempo cero y dentro de los 60

15 minutos a partir del tiempo cero, siendo “tiempo cero” el momento de la administración del

agente de ARNbc de la MAPT de la invención al sujeto. Algunos ejemplos no limitantes de

agentes terapéuticos de ARNbc que no es de la MAPT es uno o más de entre: un inhibidor de

monoamina, por ejemplo, tetrabenazina (Xenazine), deutetabenazina (Austedo) y reserpina, un

anticonvulsivante, por ejemplo, ácido valproico (Depakote, Depakene, Depacon) y clonazepam

20 (Klonopin), un agente antipsicótico, por ejemplo, risperidona (Risperdal) y haloperidol (Haldol),

y un antidepresivo, por ejemplo, paroxetina (Paxil). Estos y otros agentes terapéuticos y

modificaciones de la conducta son conocidos en la técnica y se utilizan para tratar una

enfermedad o afección asociada a la MAPT en un sujeto y pueden administrarse a un sujeto en

combinación con la administración de uno o más agentes de ARNbc de la MAPT de la invención

25 para tratar la enfermedad o afección asociada a la MAPT. Un agente de ARNbc de la MAPT de

la invención administrado a una célula o un sujeto para tratar una enfermedad o afección asociada

a la MAPT puede actuar de manera sinérgica con uno o más agentes o actividades terapéuticas

y aumentar la eficacia de uno o más agentes o actividades terapéuticas y/o aumentar la eficacia

del agente de ARNbc de la MAPT en el tratamiento de la enfermedad o afección asociada a la

30 MAPT.

Los métodos de tratamiento de la invención que incluyen la administración de un agente de

ARNbc de la MAPT se pueden utilizar antes del inicio de una enfermedad o afección asociada a

la MAPT y/o cuando una enfermedad o afección asociada a la MAPT está presente, incluso en

una etapa temprana, etapa intermedia y etapa tardía de la enfermedad o afección y todos los

35 momentos antes y después de cualquiera de estas etapas. Los métodos de la invención también

pueden ser para tratar sujetos que han sido tratados previamente por una enfermedad o afección asociada al MAPT con uno o más agentes terapéuticos y/o actividades terapéuticas que no tuvieron éxito, tuvieron un éxito mínimo y/o ya no tienen éxito en el tratamiento de la enfermedad o afección asociada al MAPT en el sujeto.

5

ARNbc codificados por vectores

- En determinadas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT puede suministrarse a una célula mediante un vector. Se pueden incluir las unidades de transcripción del agente de ARNbc de la MAPT en un vector de ADN o ARN. La preparación y el uso de dichos vectores que codifican transgenes para suministrar secuencias en una célula y/o un sujeto son bien conocidos en la técnica. Los vectores se pueden utilizar en los métodos de la invención que dan como resultado la expresión transitoria de ARNbc de la MAPT, por ejemplo, durante al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más horas, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más semanas. La longitud de la expresión transitoria se puede determinar utilizando métodos de rutina basados en elementos, tales como, entre otros, la construcción de vectores específica seleccionada y la célula y/o tejido diana. Dichos transgenes se pueden introducir como una construcción lineal, un plásmido circular o un vector viral, que puede ser un vector integrador o no integrador. El transgén también se puede construir para permitir que se herede como un plásmido extracromosómico (Gassmann, *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995) 92:1292).
- Una cadena única o cadenas de un agente de ARNbc de la MAPT pueden transcribirse a partir de un promotor en un vector de expresión. Cuando se van a expresar dos cadenas separadas para generar, por ejemplo, un ARNbc, se pueden cointroducir dos vectores de expresión separados en una célula utilizando determinados medios, tales como transfección o infección. En determinadas realizaciones, cada cadena individual de un agente de ARNbc de la MAPT de la invención puede transcribirse mediante promotores que están ambos incluidos en el mismo vector de expresión. En determinadas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT se expresa como polinucleótidos con repeticiones invertidas unidos por una secuencia polinucleotídica de enlace de modo que el agente de ARNbc de la MAPT tiene una estructura de tallo y bucle.
- Algunos ejemplos no limitantes de vectores de expresión de ARN son plásmidos de ADN o vectores virales. Los vectores de expresión útiles en las realizaciones de la invención pueden ser compatibles con células eucariotas. En la técnica se utilizan de forma habitual vectores de expresión de células eucariotas y están disponibles a partir de una serie de fuentes comerciales. El suministro de vectores que expresan ARNbc de la MAPT puede ser sistémico, tal como

mediante administración intravenosa o intramuscular, mediante administración a células diana explantadas de un sujeto seguido de reintroducción en el sujeto, o mediante cualquier otro medio que permita la introducción en una célula diana deseada.

5 Los sistemas de vectores virales que pueden incluirse en una realización de un método de la invención incluyen, entre otros, (a) vectores de adenovirus; (b) vectores de retrovirus, que incluyen, entre otros, vectores lentivirales, virus de la leucemia murina de Moloney, etc.; (c) vectores de virus adenoasociados; (d) vectores del virus del herpes simple; (e) vectores de SV 40; (f) vectores del virus del poliovirus; (g) vectores del virus del papiloma; (h) vectores del picornavirus; (i) vectores del virus de la viruela como un orthopox, por ejemplo, vectores del 10 virus vaccinia o avipoxvirus, p. ej., viruela del canario o viruela aviar; y (j) un adenovirus dependiente de ayuda o sin carga. Los constructos para la expresión recombinante de un agente de ARNbc de la MAPT pueden incluir elementos reguladores, tales como promotores, potenciadores, etc., que se pueden seleccionar para proporcionar una expresión constitutiva o regulada/inducible. Los sistemas de vectores virales y el uso de promotores y potenciadores, etc., 15 son habituales en la técnica y se pueden utilizar junto con los métodos y las composiciones que se describen en el presente documento.

Determinadas realizaciones de la invención incluyen el uso de vectores virales para el suministro de agentes de ARNbc de la MAPT a las células. En la técnica, se utilizan habitualmente numerosos sistemas de suministro basados en adenovirus para suministrar, por ejemplo, al 20 pulmón, hígado, sistema nervioso central, a las células endoteliales y al músculo. Algunos ejemplos no limitantes de vectores virales que se pueden usar en los métodos de la invención son vectores AAV, un virus de la viruela, tal como un virus vaccinia, un virus ankara modificado (MVA), NYVAC, un avipoxvirus, tal como viruela aviar o viruela del canario.

Determinadas realizaciones de la invención incluyen métodos para el suministro de agentes de 25 ARNbc de la MAPT a células utilizando un vector y dichos vectores pueden estar en un vehículo farmacéuticamente aceptable que puede, pero no necesariamente, incluir una matriz de liberación lenta en la que está incrustado el vehículo de suministro de genes. En algunas realizaciones, un vector para suministrar un ARNbc de la MAPT se puede producir a partir de una célula recombinante, y una composición farmacéutica de la invención puede incluir una o más células 30 que produjeron el sistema de suministro de ARNbc de la MAPT.

Composiciones farmacéuticas que contienen agentes de ARNbc o ARNmc de la MAPT

Determinadas realizaciones de la invención incluyen el uso de composiciones farmacéuticas que

contienen un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica que contiene el agente de ARNbc de la MAPT o el agente polinucleotídico antisentido de la MAPT se puede usar en los métodos de la invención para reducir la expresión del gen MAPT y la actividad de la MAPT en una célula y es útil para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden formular en función del modo de suministro. Algunos ejemplos no limitantes de formulaciones para los modos de suministro son: una composición formulada para administración subcutánea, una composición formulada para administración sistémica mediante administración parenteral, una composición formulada para administración intravenosa (IV), una composición formulada para administración intratecal, una composición formulada para administración directa en el cerebro, etc. La administración de una composición farmacéutica de la invención para suministrar un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT a una célula se puede realizar utilizando uno o más medios, tales como tópico (por ejemplo, mediante un parche transdérmico), pulmonar, por ejemplo, mediante inhalación o insuflación de polvo o aerosoles, incluso mediante nebulizador; intratraqueal, intranasal, epidérmico y transdérmico, oral o parenteral. La administración parenteral incluye una inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; la vía subdérmica, por ejemplo, a través de un dispositivo implantado; o la vía intracraneal, por ejemplo, mediante administración intraparenquimal, intratecal o intraventricular. Un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT también se pueden administrar directamente a un tejido diana, por ejemplo, directamente al hígado, directamente a un riñón, etc. Se entenderá que “suministrar un agente de ARNbc del MAPT” o “suministrar un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT” a una célula abarca suministrar un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT, respectivamente, directamente, así como expresar un agente de ARNbc de la MAPT en una célula a partir de un vector codificante que se suministra a una célula, o por cualquier medio adecuado con el que el agente de ARNbc de la MAPT o polinucleotídico antisentido de la MAPT esté presente en una célula. La preparación y el uso de formulaciones y medios para suministrar ARN inhibidores son bien conocidos y se usan de forma rutinaria en la técnica.

Tal como se utiliza en el presente documento, una “composición farmacéutica” comprende una cantidad farmacológicamente eficaz de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. El término “vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a un vehículo para la administración de un agente terapéutico. Dichos vehículos incluyen, entre otros, solución salina,

solución salina amortiguada, dextrosa, agua, glicerol, etanol y combinaciones de los mismos. El término excluye específicamente el medio de cultivo celular. En el caso de fármacos administrados por vía oral, los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, entre otros, excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como diluyentes inertes, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y conservantes. Los diluyentes inertes adecuados incluyen carbonato de sodio y calcio, fosfato de sodio y calcio y lactosa, mientras que el almidón de maíz y el ácido algínico son agentes disgregantes adecuados. Los agentes aglutinantes pueden incluir almidón y gelatina, mientras que el agente lubricante, si está presente, generalmente será estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse con un material como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo para retrasar la absorción en el tracto gastrointestinal. A continuación, se describen con mayor detalle los agentes incluidos en las formulaciones de fármacos.

Tal como se usa en el presente documento, los términos tales como “cantidad farmacológicamente eficaz”, “cantidad terapéuticamente eficaz” y “cantidad eficaz” se refieren a la cantidad de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención para producir el resultado farmacológico, terapéutico o preventivo deseado. Por ejemplo, si un tratamiento clínico dado se considera eficaz cuando hay al menos una reducción del 10 % en un parámetro medible asociado con una enfermedad o trastorno, una cantidad terapéuticamente eficaz de un fármaco para el tratamiento de esa enfermedad o trastorno es la cantidad necesaria para lograr al menos una reducción del 10 % en ese parámetro. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT puede reducir los niveles de polipéptido MAPT en al menos un 10 %.

Cantidades eficaces

Los métodos de la invención, en algunos aspectos, comprenden poner en contacto una célula con un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT en una cantidad eficaz para reducir la expresión del gen MAPT en la célula que entró en contacto con estos. Determinadas realizaciones de los métodos de la invención comprenden administrar un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT a un sujeto en una cantidad eficaz para reducir la expresión del gen MAPT y tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto. Una “cantidad eficaz” utilizada en términos de reducir la expresión de la MAPT y/o para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT, es una

cantidad necesaria o suficiente para lograr un efecto biológico deseado. Por ejemplo, una cantidad eficaz de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT podría ser la cantidad necesaria para (i) ralentizar o detener la progresión de la enfermedad o afección; o (ii) revertir, reducir o eliminar uno o más síntomas de la enfermedad o afección. En algunos aspectos de la invención, una cantidad eficaz es aquella cantidad de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT que cuando se administra a un sujeto que necesita un tratamiento para una enfermedad o afección asociada a la MAPT, da como resultado una respuesta terapéutica que previene y/o trata la enfermedad o afección. Según algunos aspectos de la invención, una cantidad eficaz es aquella cantidad de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención que, cuando se combina o administra conjuntamente con otro tratamiento terapéutico para una enfermedad o afección asociada a la MAPT, da como resultado una respuesta terapéutica que previene y/o trata la enfermedad o afección. En algunas realizaciones de la invención, un efecto biológico de tratar a un sujeto con un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención puede ser la mejora y/o la eliminación absoluta de los síntomas resultantes de la enfermedad o afección asociada a la MAPT. En algunas realizaciones de la invención, un efecto biológico es la anulación completa de la enfermedad o afección asociada al MAPT, como se evidencia, por ejemplo, mediante una prueba de diagnóstico que indica que el sujeto está libre de la enfermedad o afección asociada al MAPT. Un ejemplo no limitante de un síntoma fisiológico que puede detectarse incluye una reducción en el nivel de la MAPT en el hígado de un sujeto después de la administración de un agente de la invención. Se pueden utilizar medios adicionales conocidos en la técnica para evaluar el estado de una enfermedad o afección asociada al MAPT para determinar un efecto de un agente y/o métodos de la invención sobre una enfermedad o afección asociada al MAPT.

Por lo general, se determinará en ensayos clínicos una cantidad eficaz de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT para reducir la actividad del polipéptido MAPT a un nivel para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT, estableciendo una dosis eficaz para una población de prueba versus una población de control en un estudio ciego. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz será aquella que dé como resultado una respuesta deseada, por ejemplo, una cantidad que disminuya una enfermedad o afección asociada al MAPT en células, tejidos y/o sujetos con la enfermedad o afección. Por lo tanto, una cantidad eficaz de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT que pueda tratarse reduciendo la actividad del polipéptido MAPT puede ser la cantidad que, cuando se

administra, disminuye la cantidad de actividad del polipéptido MAPT en el sujeto en una cantidad que es inferior que la cantidad que estaría presente en la célula, el tejido y/o el sujeto sin la administración del agente ARNbc de la MAPT o agente polinucleotídico antisentido de la MAPT. En determinados aspectos de la invención, el nivel de actividad polipeptídica MAPT y/o expresión del gen MAPT presente en una célula, un tejido y/o el sujeto que no ha estado en contacto con un agente ARNbc de la MAPT o agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención ni se le ha administrado el mismo, se denomina cantidad “control”. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, una cantidad de control para un sujeto es una cantidad previa al tratamiento para el sujeto; en otras palabras, un nivel en un sujeto antes de la administración de un agente de la MAPT puede ser un nivel de control para ese sujeto y compararse con un nivel actividad polipeptídica de la MAPT y/o expresión del gen MAPT en el sujeto después de la administración del ARNip. En el caso del tratamiento de una enfermedad o afección asociada al MAPT, la respuesta deseada puede ser reducir o eliminar uno o más síntomas de la enfermedad o afección en la célula, el tejido y/o el sujeto. La reducción o eliminación puede ser temporal o permanente. Se entenderá que el estado de una enfermedad o afección asociada a la MAPT se puede controlar con métodos para la determinación de la actividad polipeptídica de la MAPT, la expresión del gen MAPT, la evaluación de síntomas, las pruebas clínicas, etc. En algunos aspectos de la invención, una respuesta deseada al tratamiento de una enfermedad o afección asociada a la MAPT es retrasar la aparición o incluso prevenir la aparición de la enfermedad o afección.

Una cantidad eficaz de un compuesto que disminuye la actividad del polipéptido MAPT también se puede determinar evaluando los efectos fisiológicos de la administración de un agente ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT en una célula o sujeto, como una disminución de los síntomas de una enfermedad o afección asociada a la MAPT después de la administración. Se pueden utilizar ensayos y/o controles sintomáticos de un sujeto para determinar la eficacia de un agente de ARNbc de la MAPT o agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención, que puede administrarse en un compuesto farmacéutico de la invención, y para determinar la presencia o ausencia de una respuesta al tratamiento. Un ejemplo no limitante es que una o más pruebas conocidas en la técnica de una disminución de la actividad biológica de la MAPT, por ejemplo, o patologías adicionales asociadas con niveles elevados de la MAPT, preferentemente en muestras de sangre, suero o líquido cefalorraquídeo. Fenotípicamente, las tauopatías muestran una progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual.

Algunas realizaciones de la invención incluyen métodos para determinar la eficacia de un agente de ARNbc o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención administrado a

un sujeto para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT mediante la evaluación y/o el control de una o más “características fisiológicas” de la enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto. Algunos ejemplos no limitantes de las características fisiológicas de una enfermedad o afección asociada a la MAPT son el nivel de ARNm de la MAPT, el nivel de proteína MAPT o la progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual.

Se entenderá que la cantidad de un agente de ARNbc de la MAPT o agente polinucleotídico antisentido de la MAPT administrado a un sujeto puede modificarse en función, al menos en parte, de dichas determinaciones del estado de la enfermedad y/o afección y/o características fisiológicas determinadas para un sujeto. La cantidad de un tratamiento se puede variar, por ejemplo, aumentando o disminuyendo la cantidad de un agente de ARNbc de la MAPT o agente polinucleotídico antisentido de la MAPT, cambiando la composición en la que se encuentra el agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT, respectivamente, se administra modificando la vía de administración, modificando el horario de la dosis, etcétera. La cantidad eficaz de un agente de ARNbc de la MAPT o agente polinucleotídico antisentido de la MAPT variará según la afección particular que se esté tratando, la edad y las condiciones físicas del sujeto que esté siendo tratado; la gravedad de la afección, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia concurrente (si la hay), la vía de administración específica y factores adicionales dentro del conocimiento y la experiencia del profesional de la salud. Por ejemplo, una cantidad eficaz puede depender del nivel deseado de actividad del polipéptido MAPT y/o de la expresión del gen MAPT que sea eficaz para tratar la enfermedad o afección asociada a la MAPT. Un experto en la técnica puede determinar empíricamente una cantidad eficaz de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT particular de la invención para su uso en métodos de la invención sin necesidad de experimentación indebida. Combinado con los descubrimientos proporcionados en el presente documento, seleccionando entre varios agentes de ARNbc de la MAPT o agentes polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención, y valorando los factores como potencia, biodisponibilidad relativa, peso corporal del paciente, gravedad de los efectos secundarios adversos y forma de administración preferida, se puede planificar un régimen de tratamiento profiláctico o terapéutico eficaz que sea eficaz para tratar al sujeto en particular. Tal como se utiliza en las realizaciones de la invención, una cantidad eficaz de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención puede ser aquella cantidad que cuando entra en contacto con una célula da como resultado un efecto biológico deseado en la célula.

Se reconocerá que el silenciamiento del gen MAPT puede determinarse en cualquier célula que exprese el gen MAPT, ya sea constitutivamente o mediante ingeniería genómica, y mediante

cualquier ensayo apropiado. En algunas realizaciones de la invención, la expresión del gen MAPT se reduce en al menos 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % mediante la administración de un agente de ARNbc de la MAPT de la invención. En algunas realizaciones de la invención, la expresión del gen MAPT se reduce entre un 5 % y un 10 %, un 5 % y un 25 %, un 10 % y un 50 %, un 10 % y un 75 %, un 25 % y un 75 %, un 25 % y un 100 % o un 50 % y un 100 % mediante la administración de un agente de ARNbc de la MAPT de la invención.

Dosis

Los agentes de ARNbc de la MAPT y los agentes polinucleotídico antisentido de la MAPT se administran en composiciones farmacéuticas en dosis suficientes para inhibir la expresión del gen MAPT. En determinadas realizaciones de la invención, una dosis del agente de ARNbc de MAPT o agente polinucleotídico antisentido de MAPT está en un intervalo de 0,01 a 200,0 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor por día, generalmente en un intervalo de 1 a 50 mg por kilogramo de peso corporal, 5 a 40 mg/kg de peso corporal, 10 a 30 mg/kg de peso corporal, 1 a 20 mg/kg de peso corporal, 1 a 10 mg/kg de peso corporal, 4 a 15 mg/kg de peso corporal por día, inclusive. Por ejemplo, el agente de ARNbc de la MAPT o agente polinucleotídico antisentido de la MAPT puede administrarse en una cantidad que es de aproximadamente 0,01 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,3 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,5 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,7 mg/kg, 2,8 mg/kg, 2,9 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,1 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,5 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,7 mg/kg, 3,8 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4 mg/kg, 4,1 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,3 mg/kg, 4,4 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,6 mg/kg, 4,7 mg/kg, 4,8 mg/kg, 4,9 mg/kg, 5 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,2 mg/kg, 5,3 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,5 mg/kg, 5,6 mg/kg, 5,7 mg/kg, 5,8 mg/kg, 5,9 mg/kg, 6 mg/kg, 6,1 mg/kg, 6,2 mg/kg, 6,3 mg/kg, 6,4 mg/kg, 6,5 mg/kg, 6,6 mg/kg, 6,7 mg/kg, 6,8 mg/kg, 6,9 mg/kg, 7 mg/kg, 7,1 mg/kg, 7,2 mg/kg, 7,3 mg/kg, 7,4 mg/kg, 7,5 mg/kg, 7,6 mg/kg, 7,7 mg/kg, 7,8 mg/kg, 7,9 mg/kg, 8 mg/kg, 8,1 mg/kg, 8,2 mg/kg, 8,3 mg/kg, 8,4 mg/kg, 8,5 mg/kg, 8,6 mg/kg, 8,7 mg/kg, 8,8 mg/kg, 8,9 mg/kg, 9 mg/kg, 9,1 mg/kg, 9,2 mg/kg, 9,3 mg/kg, 9,4 mg/kg, 9,5 mg/kg, 9,6 mg/kg, 9,7 mg/kg, 9,8 mg/kg, 9,9 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg, 14 mg/kg, 15 mg/kg, 16 mg/kg, 17 mg/kg, 18 mg/kg, 19 mg/kg, 20 mg/kg, 21 mg/kg, 22 mg/kg, 23 mg/kg, 24 mg/kg, 25 mg/kg, 26 mg/kg, 27 mg/kg, 28 mg/kg, 29 mg/kg, 30 mg/kg, 31 mg/kg, 32 mg/kg, 33 mg/kg, 34 mg/kg, 35 mg/kg, 36 mg/kg, 37 mg/kg, 38 mg/kg, 39 mg/kg, 40 mg/kg, 41 mg/kg, 42 mg/kg, 43 mg/kg, 44 mg/kg, 45 mg/kg, 46 mg/kg, 47 mg/kg, 48 mg/kg,

49 mg/kg, hasta 50 mg/kg de peso corporal por dosis única.

Se pueden considerar varios factores en la determinación de la dosis y el momento del suministro de un agente de ARNbc de la MAPT de la invención. La cantidad absoluta de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT suministrado
5 dependerá de una variedad de factores que incluyen un tratamiento concomitante, el número de dosis y los parámetros individuales del sujeto que incluyen la edad, el estado físico, el tamaño y el peso. Estos son factores bien conocidos por los expertos en la técnica y pueden abordarse con experimentación de rutina solamente. En algunas realizaciones, se puede usar una dosis máxima, es decir, la dosis segura más alta de acuerdo con el buen juicio médico.

10 Los métodos de la invención pueden incluir, en algunas realizaciones, administrar a un sujeto 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más dosis de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT. En algunos casos, un compuesto farmacéutico (por ejemplo, que comprende un agente de ARNbc de la MAPT o que comprende un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT) se puede administrar a un sujeto al menos diariamente,
15 cada dos días, semanalmente, cada dos semanas, mensualmente, etc. Las dosis pueden administrarse una vez al día o más de una vez al día, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más veces en un período de 24 horas. Una composición farmacéutica de la invención se puede administrar una vez al día, o el agente de ARNbc de la MAPT o el agente polinucleotídico antisentido de la MAPT se puede administrar como dos, tres o más subdosis a intervalos apropiados a lo largo del
20 día o incluso usando una infusión o administración continua a través de una formulación de liberación controlada. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, una composición farmacéutica de la invención se administra a un sujeto una o más veces al día, una o más veces a la semana, una o más veces al mes o una o más veces al año.

Los métodos de la invención, en algunos aspectos, incluyen la administración de un compuesto
25 farmacéutico solo, en combinación con uno o más otros agentes de ARNbc de la MAPT o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y/o en combinación con otras terapias farmacológicas o actividades o regímenes de tratamiento que se administran a sujetos con una enfermedad o afección asociada a la MAPT. Los compuestos farmacéuticos pueden administrarse como parte de composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas utilizadas en los métodos de
30 la invención pueden ser estériles y contener una cantidad de un agente de ARNbc de la MAPT o agente polinucleotídico antisentido de la MAPT que reducirá la actividad de un polipéptido MAPT a un nivel suficiente para producir la respuesta deseada en una unidad de peso o volumen adecuada para la administración a un sujeto. Una dosis administrada a un sujeto de una composición farmacéutica que incluye un agente de ARNbc de la MAPT o un agente

polinucleotídico antisentido de la MAPT para reducir la actividad de la proteína MAPT se puede seleccionar de acuerdo con diferentes parámetros, en particular según el modo de administración utilizado y el estado de salud del sujeto. Otros factores incluyen el período de tratamiento deseado. En caso de que la respuesta en un sujeto sea insuficiente con las dosis iniciales administradas, se pueden emplear dosis más altas (o dosis eficazmente más altas por una vía de administración diferente, más localizada) en la medida que lo permita la tolerancia del paciente.

Tratamiento

Tal como se utiliza en el presente documento, los términos “enfermedad asociada al MAPT”, “enfermedades y afecciones asociadas al MAPT” y “enfermedades y afecciones causadas y/o moduladas por el MAPT” tienen por objeto incluir cualquier enfermedad asociada con el gen o la proteína MAPT. Estas enfermedades pueden ser causadas, por ejemplo, por una sobreproducción de la proteína MAPT, por una mutación del gen MAPT, por una escisión anormal de la proteína MAPT, por una interacción anormal entre el MAPT y otras proteínas u otras sustancias endógenas o exógenas. Algunos ejemplos de enfermedades asociadas a la MAPT incluyen, entre otras: tauopatía, enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (DFT), demencia frontotemporal variante conductual (DFTvc), DLFT con mutaciones MAPT, DFT con enfermedad de la neurona motora, afasia progresiva primaria variante no fluente (nfvPPA), afasia progresiva primaria semántica (APP-S), afasia progresiva primaria logopénica (APP-L), demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (DPFT-17), enfermedad de Pick (EPI), enfermedad de los granos argirófilos (EGA), degeneración corticobasal (DCB), tauopatía multisistémica con demencia presenil (TDMS), tauopatía de la sustancia blanca con inclusiones gliales globulares (DLFT con IGG), demencia por ovillos neurofibrilares (ONF), esclerosis lateral amiotrófica (ELA), síndrome corticobasal (SCB), parálisis supranuclear progresiva (PSP), enfermedad de Parkinson, parkinsonismo posencefalítico, síndrome de Down (SD), enfermedad de Huntington, distrofia miotónica tipo 1 y enfermedad de Niemann-Pick.

Las mutaciones en la MAPT causan demencia frontotemporal con parkinsonismo y parálisis supranuclear progresiva. Las mutaciones en la MAPT y en la proteína tau hiperfosforilada también se asocian con la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la lesión cerebral traumática, que afectan a millones de personas en todo el mundo. En condiciones patológicas, la proteína tau sufre una variedad de modificaciones intramoleculares y forma una proteína tau oligomérica tóxica y se empareja en filamentos helicoidales, que luego se ensamblan en ovillos neurofibrilares y forman depósitos en el cerebro (tauopatía). Dado que la regulación de tau es fundamental para la memoria, las tauopatías se han

vinculado al deterioro cognitivo. Aún no se dispone de terapias eficaces para detener o revertir la progresión de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson, ambas muy prevalentes y en las que interviene la proteína tau. Por consiguiente, existe la necesidad de silenciar de manera eficaz y potente la expresión del ARNm de la MAPT, y la presente solicitud aborda esta necesidad.

- 5 Las tauopatías son una clase heterogénea de trastornos neurodegenerativos progresivos caracterizados patológicamente por la presencia de agregados de Tau en el cerebro. Fenotípicamente, las tauopatías muestran una progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual. Las tauopatías incluyen, entre otras, la enfermedad de Alzheimer, la demencia frontotemporal (DFT) y la parálisis supranuclear progresiva (PSP). Tau es un componente
- 10 importante de los ovillos neurofibrilares en el citoplasma neuronal, un sello distintivo de la enfermedad de Alzheimer. La agregación y el depósito de tau también se observó en aproximadamente el 50 % de los cerebros de pacientes con enfermedad de Parkinson. La DFT incluye, entre otros, la demencia frontotemporal variante conductual (dftvc), la afasia progresiva primaria variante no fluente (nfvPPA) y el síndrome corticobasal (SCB).
- 15 También se proporcionan métodos útiles para mejorar al menos un síntoma o característica distintiva de una enfermedad neurodegenerativa. En determinadas realizaciones, la enfermedad neurodegenerativa es una tauopatía, enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal (DFT), FTDP-17, parálisis supranuclear progresiva (PSP), encefalopatía traumática crónica (ETC), degeneración ganglionar corticobasal (DBC), epilepsia o síndrome de Dravet. En determinadas
- 20 realizaciones, la enfermedad neurodegenerativa es EA o DFT. En determinadas realizaciones, el síntoma o la característica distintiva incluye pérdida de memoria, pérdida de la función motora y aumento en el número y/o volumen de inclusiones neurofibrilares.

Tal como se utiliza en este documento, “síntoma” o “signo distintivo” significa cualquier característica física o resultado de prueba que indique la existencia o gravedad de una

25 enfermedad o un trastorno. En determinadas realizaciones, un síntoma es evidente para un sujeto o para un profesional médico que examina al sujeto o le realiza una prueba. En determinadas realizaciones, un sello distintivo es evidente en pruebas de diagnóstico invasivas, incluidas, entre otras, pruebas cadavéricas. En determinadas realizaciones, un sello distintivo es evidente en una exploración por RMN del cerebro. En determinadas realizaciones, los síntomas o las

30 características distintivas incluyen pérdida de memoria, pérdida de la función motora y aumento en el número y/o volumen de inclusiones neurofibrilares.

Los tratamientos disponibles solo están orientados a aliviar los síntomas y mejorar la calidad de vida del paciente a medida que la enfermedad evoluciona. Los medicamentos en fase de desarrollo preclínico o clínico incluyen inmunoterapias activas y pasivas; inhibidores de la O-

desglicosilación, agregación, quinasas, acetilación, caspasas o expresión de tau; activadores de fosfatasa; estabilizadores de microtúbulos; y moduladores de la autofagia o degradación proteosomal. Los biomarcadores y las pruebas utilizadas en ensayos clínicos para evaluar tauopatías incluyen la proteína tau fosforilada en la treonina 181 (pTau), la proteína tau total (tTau), la cadena ligera del neurofilamento (NfL) y la resonancia magnética volumétrica (RMNV).

En determinados aspectos de la invención, se puede administrar a un sujeto un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención en un momento que sea uno o más de antes o después del diagnóstico de una enfermedad o afección asociada a la MAPT. En algunos aspectos de la invención, un sujeto corre el riesgo de tener o desarrollar una enfermedad o afección asociada al MAPT. Un sujeto en riesgo de desarrollar una enfermedad o afección asociada al MAPT es aquel que tiene una mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad o afección asociada al MAPT, en comparación con un riesgo de control de desarrollar la enfermedad o afección asociada al MAPT. En algunas realizaciones de la invención, un nivel de riesgo puede ser estadísticamente significativo en comparación con un nivel de riesgo de control. Un sujeto en riesgo puede incluir, por ejemplo, un sujeto que es o será un sujeto que tiene una enfermedad preexistente y/o una anomalía genética que lo hace más susceptible a una enfermedad o afección asociada al MAPT que un sujeto de control sin la enfermedad preexistente o la anomalía genética; un sujeto que tiene antecedentes médicos familiares y/o personales de la enfermedad o afección asociada al MAPT; y un sujeto que ha sido tratado previamente por una enfermedad o afección asociada al MAPT. Se entenderá que una enfermedad preexistente y/o una anomalía genética que hace al sujeto más susceptible a una enfermedad o afección asociada al MAPT, puede ser una enfermedad o anomalía genética que, cuando está presente, ha sido previamente identificada como que tiene una relación correlativa con una mayor probabilidad de desarrollar una enfermedad o afección asociada al MAPT.

Se entenderá que un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT puede administrarse a un sujeto en función del estado de salud del sujeto individual. Por ejemplo, una atención médica proporcionada a un sujeto puede evaluar un nivel de la MAPT medido en una muestra obtenida de un sujeto y determinar que es deseable reducir el nivel de la MAPT del sujeto, mediante la administración de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención. En este ejemplo, el nivel de la MAPT puede considerarse una característica fisiológica de una afección asociada a la MAPT, incluso si al sujeto no se le diagnostica una enfermedad asociada a la MAPT como la que se describe en el presente documento. Un proveedor de atención médica puede controlar los cambios en el nivel de la MAPT del sujeto, como una medida de la eficacia del agente de ARNbc de la MAPT administrado o del agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención. En un

ejemplo no limitante, se puede obtener una muestra biológica, como una muestra de sangre o suero, de un sujeto y determinar un nivel de MAPT del sujeto en la muestra. Se administra al sujeto un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT y se obtiene una muestra de sangre del sujeto después de la administración y se determina el nivel de la MAPT utilizando la muestra y los resultados se comparan con los resultados determinados en la muestra previa a la administración (anterior) del sujeto. Una reducción en el nivel de la MAPT del sujeto en la muestra posterior en comparación con el nivel previo a la administración indica la eficacia del agente de ARNbc de la MAPT o del agente polinucleotídico antisentido de la MAPT administrado para reducir el nivel de lípidos en el sujeto. Determinadas realizaciones de los métodos de la invención incluyen ajustar un tratamiento que incluye administrar un agente de ARNbc o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención a un sujeto basándose al menos en parte en la evaluación de un cambio en una o más de las características fisiológicas del sujeto de la enfermedad o afección asociada a la MAPT resultante del tratamiento. Por ejemplo, en algunas realizaciones de la invención, se puede determinar un efecto de un agente de ARNbc o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención administrado a un sujeto y usarse para ayudar a ajustar una cantidad de un agente de ARNbc o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención administrado posteriormente al sujeto. En un ejemplo no limitante, se administra a un sujeto un agente de ARNbc o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención, se determina el nivel de la MAPT del sujeto después de la administración y, basándose al menos en parte en el nivel determinado, se determina que una mayor cantidad del agente de ARNbc o agente polinucleotídico antisentido de la MAPT es deseable para aumentar el efecto fisiológico del agente administrado, por ejemplo para reducir o reducir aún más el nivel de la MAPT del sujeto. En otro ejemplo no limitante, se administra a un sujeto un agente de ARNbc o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención, se determina el nivel de la MAPT del sujeto después de la administración y basándose al menos en parte en el nivel determinado, es deseable administrar al sujeto una cantidad menor del agente de ARNbc o del agente polinucleotídico antisentido de la MAPT.

Por lo tanto, algunas realizaciones de la invención incluyen evaluar un cambio en una o más características fisiológicas resultantes de un tratamiento previo de un sujeto para ajustar una cantidad de un agente de ARNbc o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención administrado posteriormente al sujeto. Algunas realizaciones de los métodos de la invención incluyen 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más determinaciones de una característica fisiológica de una enfermedad o afección asociada a la MAPT para evaluar y/o controlar la eficacia de un agente de ARNbc de la MAPT administrado o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención, y opcionalmente usar las determinaciones para ajustar uno o más de una dosis, un

régimen de administración y/o una frecuencia de administración de un agente de ARNbc o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT en un sujeto. En algunas realizaciones de los métodos de la invención, un resultado deseado de la administración de una cantidad eficaz de un agente de ARNbc o un agente polinucleótido antisentido de la MAPT de la invención a un sujeto es una reducción del nivel de ARNm de la MAPT del sujeto, del nivel de proteína MAPT en el sujeto o de la progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual. Las tauopatías son una clase heterogénea de trastornos neurodegenerativos progresivos caracterizados patológicamente por la presencia de agregados de Tau en el cerebro. Fenotípicamente, las tauopatías muestran una progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual. Las tauopatías son una clase heterogénea de trastornos neurodegenerativos progresivos caracterizados patológicamente por la presencia de agregados de la proteína tau en el cerebro. En las realizaciones, los métodos incluyen una inhibición clínicamente relevante de la expresión de la MAPT, p. ej., como se demuestra por un resultado clínicamente relevante después del tratamiento de un sujeto con un agente para reducir la expresión de la MAPT, como, p. ej., la estabilización o inhibición de la atrofia del caudado (p. ej., evaluada por RMN volumétrica [RMNV]), una estabilización o reducción en los niveles de la cadena ligera de neurofilamentos (NfL) en una muestra de LCR de un sujeto, una reducción en el ARNm de la MAPT mutante o una proteína tau mutante escindida, p. ej., una proteína o un ARNm de la MAPT mutante de longitud completa y una proteína o un ARNm de la MAPT mutante escindido.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “tratado/a” o “que trata” cuando se usan con respecto a una enfermedad o afección asociada a la MAPT pueden referirse a un tratamiento profiláctico que disminuye la probabilidad de que un sujeto desarrolle la enfermedad o afección asociada a la MAPT y también pueden referirse a un tratamiento después de que el sujeto haya desarrollado una enfermedad o afección asociada a la MAPT con el fin de eliminar o reducir el nivel de la enfermedad o afección asociada a la MAPT, evitar que la enfermedad o afección asociada a la MAPT progrese (por ejemplo, sea más grave) y/o ralentizar la progresión de la enfermedad o afección asociada a la MAPT en un sujeto en comparación con un sujeto que no recibe el tratamiento para reducir la actividad del polipéptido MAPT en el sujeto.

Se pueden utilizar determinadas realizaciones de agentes, composiciones y métodos de la invención para inhibir la expresión del gen MAPT. Tal como se usa en el presente documento en referencia a la expresión un gen MAPT, los términos “inhibir”, “silenciar”, “reducir”, “regular negativamente” e “inactivar” significan que la expresión del gen MAPT, medida a través de uno o más del nivel de ARN transcrito a partir del gen, el nivel de actividad de la MAPT expresado y el nivel del polipéptido MAPT, proteína o subunidad proteica traducida a partir del ARNm en

una célula, grupo de células, tejido, órgano o sujeto en el que se transcribe el gen MAPT, se reduce cuando la célula, grupo de células, tejido, órgano o sujeto se pone en contacto con (por ejemplo, se trata con) un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención, en comparación con un nivel de control de ARN transcrito del gen MAPT, un nivel de actividad de la MAPT expresado o un nivel de la MAPT traducida a partir del ARNm, respectivamente. En algunas realizaciones, un nivel de control es un nivel en una célula, un tejido, un órgano o un sujeto que no se ha puesto en contacto con (por ejemplo, tratado con) el agente de ARNbc de la MAPT o el agente polinucleotídico antisentido de la MAPT.

10 *Métodos de administración*

Hay una variedad de vías de administración para un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT disponibles para su uso en los métodos de la invención. El modo de administración particular seleccionado dependerá, al menos en parte, de la afección particular que se esté tratando y de la dosis requerida para la eficacia terapéutica. Los métodos

de esta invención, en términos generales, se pueden practicar utilizando cualquier modo de administración que sea médicamente aceptable, es decir, cualquier modo que produzca niveles eficaces de tratamiento de una enfermedad o afección asociada al MAPT sin causar efectos adversos clínicamente inaceptables. En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT se puede administrar por vía oral, enteral, mucosal, subcutánea y/o parenteral. El término “parenteral” incluye inyecciones o técnicas de infusión subcutáneas, intravenosas, intratecales, intramusculares, intraperitoneales e intraesternales. Otras vías incluyen, entre otras, la nasal (p. ej., a través de una sonda gastronasal), la dérmica, la vaginal, la rectal, la sublingual y la inhalación. Las vías de administración de la invención pueden incluir la intratecal, la intraventricular o la intracraneal.

En algunas realizaciones de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT puede colocarse dentro de una matriz de liberación lenta y administrarse mediante la colocación de la matriz en el sujeto. En algunos aspectos de la invención, un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT se puede administrar a una célula sujeto utilizando nanopartículas recubiertas con un agente de administración que se dirige a una célula u organela específica. En la técnica, se conocen diversos medios, métodos y agentes de administración. En otras partes del presente documento, se proporcionan además ejemplos no limitantes de métodos de suministro y agentes de suministro. En algunos aspectos de la invención, el término “suministrar” en referencia a un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT puede

significar la administración a una célula o un sujeto de una o más secuencias “desnudas” de agente de ARNbc de la MAPT o de agente polinucleotídico antisentido de la MAPT y, en determinados aspectos de la invención, “suministrar” significa la administración a una célula o un sujeto mediante medios de transfección, administrando una célula que comprende un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT a un sujeto, administrando un vector que codifica un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT en una célula y/o un sujeto, etc. La administración de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT mediante un medio de transfección puede incluir la administración de un vector a una célula y/o un sujeto.

En algunos métodos de la invención, se pueden administrar uno o más agentes de ARNbc de la MAPT o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT en formulaciones, que se pueden administrar en soluciones farmacéuticamente aceptables, que pueden contener rutinariamente concentraciones farmacéuticamente aceptables de sal, soluciones amortiguadoras, conservantes, vehículos compatibles, adyuvantes y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos. En algunas realizaciones de la invención, se puede formular un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT con otro agente terapéutico para la administración simultánea. Según los métodos de la invención, se puede administrar un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT en una composición farmacéutica. En general, una composición farmacéutica comprende un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT y, opcionalmente, un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables son bien conocidos por los expertos con conocimientos en la técnica. Tal como se utiliza en el presente documento, un vehículo farmacéuticamente aceptable se refiere a un material no tóxico que no interfiere con la eficacia de la actividad biológica de los ingredientes activos, por ejemplo, la capacidad del agente de ARNbc de la MAPT o del agente polinucleotídico antisentido de la MAPT para inhibir la expresión del gen MAPT en una célula o un sujeto. Se conocen en la técnica numerosos métodos para administrar y suministrar agentes de ARNbc o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT para uso terapéutico y pueden utilizarse en los métodos de la invención.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen diluyentes, rellenos, sales, soluciones amortiguadoras, estabilizadores, solubilizantes y otros materiales que son bien conocidos en la técnica. En la patente de EE. UU. N.º 5 211 657, se describen algunos ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables y otros son conocidos por los expertos en la técnica. Estas preparaciones pueden contener, con frecuencia, sal, agentes amortiguadores, conservantes, vehículos compatibles y, opcionalmente, otros agentes terapéuticos. Cuando se utilizan en medicina, las sales deben ser farmacéuticamente aceptables, pero se pueden utilizar sales que no

son farmacéuticamente aceptables, según corresponda, para preparar sales farmacéuticamente aceptables a partir de las mismas y no quedan excluidas del alcance de la invención. Dichas sales farmacológica y farmacéuticamente aceptables incluyen, entre otras, aquellas preparadas a partir de los siguientes ácidos: clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, maleico, acético, salicílico, cítrico, fórmico, malónico, succínico y similares. Además, se pueden preparar sales farmacéuticamente aceptables como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, como sales de sodio, potasio o calcio.

Algunas realizaciones de los métodos de la invención incluyen administrar uno o más agentes de ARNbc de la MAPT o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT directamente a un tejido. En algunas realizaciones, el tejido al que se administra el compuesto es un tejido en el que la enfermedad o afección asociada al MAPT está presente o es probable que se desarrolle, y algunos ejemplos no limitantes de estos son el corazón. La administración directa al tejido puede lograrse mediante inyección directa u otros medios. Muchos compuestos suministrados por vía oral viajan naturalmente hacia el hígado y los riñones, o a través de estos, y algunas realizaciones de los métodos de tratamiento de la invención incluyen la administración oral de uno o más agentes de ARNbc de la MAPT a un sujeto. Los agentes de ARNbc de la MAPT o los agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT, ya sea solos o junto con otros agentes terapéuticos, pueden administrarse una vez o, alternativamente, pueden administrarse en una pluralidad de administraciones. Si se administra varias veces, el agente de ARNbc de la MAPT o el agente polinucleotídico antisentido de la MAPT se puede administrar por vías diferentes. Por ejemplo, aunque no pretende ser limitante, una primera (o varias primeras) administraciones pueden realizarse por vía subcutánea y una o más administraciones adicionales pueden ser administraciones orales y/o sistémicas. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía subcutánea. En determinadas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto mediante administración IV. En algunas realizaciones, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía intratecal. En otra realización más, el agente de ARNbc se administra al sujeto por vía intracisternal. Un ejemplo no limitante de administración intracisternal comprende una inyección en la cisterna magna (cisterna cerebelomedular) mediante una punción suboccipital. En determinadas realizaciones, el ARNbc se administra mediante inyección intracerebroventricular (ICV), inyección intraestriatal (IS), inyección intravenosa (IV), inyección subcutánea (SC) o una combinación de las mismas.

Para las realizaciones de la invención en las que es deseable administrar un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT sistémicamente, el agente de ARNbc de la MAPT o el agente polinucleotídico antisentido de la MAPT se puede formular para administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección en bolo o

infusión continua. Las formulaciones inyectables pueden presentarse en forma de unidosis, por ejemplo, en ampollas, o en envases multidosis, con o sin un conservante agregado. Las formulaciones de agentes de ARNbc de la MAPT (también denominadas composiciones farmacéuticas) pueden ser suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizadores y/o dispersantes.

Las preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones acuosas o no acuosas estériles. Entre los ejemplos de disolventes no acuosos se encuentran el propilenglicol, el polietilenglicol, los aceites vegetales, como el aceite de oliva, y los ésteres orgánicos inyectables, como el oleato de etilo. Los vehículos acuosos incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluidos medios salinos y amortiguados. Los vehículos para administración parenteral incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, lactato de Ringer o aceites fijos. Los vehículos para administración intravenosa incluyen repositorios de líquidos y nutrientes, reponedores de electrolitos (como los basados en solución de Ringer con dextrosa) y similares. También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos, como antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes y gases inertes, y similares. Se obtendrán dosis más bajas con otras formas de administración, como la intravenosa. En caso de que la respuesta en un sujeto sea insuficiente con las dosis iniciales administradas, se pueden emplear dosis más altas (o dosis eficazmente más altas por una vía de administración diferente, más localizada) en la medida que lo permita la tolerancia del paciente. Se pueden utilizar varias dosis al día, según sea necesario, para lograr niveles sistémicos o locales adecuados de uno o más agentes de ARNbc de la MAPT o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y para lograr una reducción adecuada en la actividad de la MAPT.

En otras realizaciones más, los métodos de la invención incluyen el uso de un vehículo de suministro, tal como una micropartícula, nanopartícula o implante biocompatible adecuado para implantación en un receptor, por ejemplo, un sujeto. Algunos ejemplos de implantes bioerosionables que pueden ser útiles de acuerdo con este método se describen en la publicación de PCT N.º WO95/24929 (incorporada al presente documento como referencia), que describe una matriz polimérica biocompatible y biodegradable que contiene una macromolécula biológica.

Se pueden utilizar matrices poliméricas no biodegradables y biodegradables en los métodos de la invención para suministrar uno o más agentes de ARNbc de la MAPT o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT a un sujeto. En algunas realizaciones, una matriz puede ser biodegradable. Los polímeros de matriz pueden ser polímeros naturales o sintéticos. Se puede

seleccionar un polímero en función del período durante el cual se desea la liberación, generalmente en el rango de unas pocas horas a un año o más. Por lo general, se puede utilizar una liberación durante un período que oscila entre unas pocas horas y tres a doce meses. El polímero está opcionalmente en forma de un hidrogel que puede absorber hasta aproximadamente el 90 % de su peso en agua y, además, está opcionalmente reticulado con iones multivalentes u otros polímeros.

En general, los agentes de ARNbc de la MAPT o los agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT se pueden suministrar en algunas realizaciones de la invención utilizando el implante bioerosionable por difusión o por degradación de la matriz polimérica. Algunos ejemplos de polímeros sintéticos para dicho uso son bien conocidos en la materia. Se pueden utilizar polímeros biodegradables y polímeros no biodegradables para el suministro de agentes de ARNbc de la MAPT o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT utilizando métodos conocidos en la técnica. También se pueden utilizar polímeros bioadhesivos, tales como hidrogeles bioerosionables (véase H. S. Sawhney, C. P. Pathak y J. A. Hubell en *Macromolecules*, 1993, 26, 581-587, cuyos descubrimientos se incorporan al presente documento como referencia) para suministrar agentes de ARNbc de la MAPT o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT para el tratamiento de una enfermedad o afección asociada a la MAPT. Otros sistemas de suministro adecuados pueden incluir sistemas de liberación dependiente de tiempo, liberación retardada o liberación sostenida. Dichos sistemas pueden evitar administraciones repetidas de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT, lo que incrementa la comodidad para el sujeto y el profesional de la salud. Hay muchos tipos de sistemas de liberación disponibles y conocidos por los expertos en la materia. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. N.º 5 075 109; 4 452 775; 4 675 189; 5 736 152; 3 854 480; 5 133 974 y 5 407 686 (la enseñanza de cada una de los cuales se incorpora como referencia al presente documento). Además, se pueden utilizar sistemas de suministro mediante *hardware* que utilizan bombas, algunos de los cuales están adaptados para su implantación.

El uso de un implante de liberación sostenida a largo plazo puede ser adecuado para el tratamiento profiláctico de sujetos y para sujetos susceptibles de desarrollar una enfermedad o afección asociada al MAPT recurrente. Tal como se utiliza en el presente documento, el suministro a largo plazo significa que el implante se construye y dispone para suministrar una concentración terapéutica de un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT durante al menos hasta 10 días, 20 días, 30 días, 60 días, 90 días, seis meses, un año o más. Los implantes de liberación sostenida a largo plazo son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen algunos de los sistemas de liberación descritos anteriormente.

Se pueden preparar formulaciones terapéuticas de agentes de ARNbc de la MAPT o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT para su almacenamiento mezclando la molécula o el compuesto que tenga el grado de pureza deseado con vehículos, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables opcionales (Remington's Pharmaceutical Sciences 21.^a edición, [2006]), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los vehículos, excipientes o estabilizadores aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas e incluyen tampones como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabeno, como metil- o propilparabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos, como polivinilpirrolidona; aminoácidos como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos, incluidos glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes como EDTA; azúcares como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales, como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de proteína-Zn); y/o tensioactivos no iónicos como TWEEN.[®], PLURONICS[®] o polietilenglicol (PEG).

20 *Células, sujetos y controles*

Los métodos de la invención se pueden usar junto con células, tejidos, órganos y/o sujetos. En algunos aspectos de la invención, un sujeto es un mamífero humano o vertebrado que incluye, entre otros, un perro, un gato, un caballo, una vaca, una cabra, un ratón, una rata y un primate, por ejemplo, un mono. Por lo tanto, la invención se puede utilizar para tratar enfermedades o afecciones asociadas al MAPT en sujetos humanos y no humanos. En algunos aspectos de la invención, un sujeto puede ser un animal de granja, un animal de zoológico, un animal domesticado o un animal no domesticado y los métodos de la invención se pueden utilizar en regímenes de prevención y tratamiento veterinario. En algunas realizaciones de la invención, el sujeto es un ser humano y los métodos de la invención se pueden utilizar en regímenes de prevención y tratamiento en humanos.

Algunos ejemplos no limitantes de sujetos a los que se puede aplicar la presente invención son sujetos con un diagnóstico confirmado, un diagnóstico presuntivo o un riesgo a tener una enfermedad o afección asociada con la expresión y/o actividad de la MAPT superior a la deseable, también denominados “niveles elevados de expresión de la MAPT”. Algunos ejemplos no

limitantes de enfermedades y afecciones asociadas con niveles de expresión y/o actividad de la MAPT más elevados de lo deseable se describen en otra parte del presente documento. Los métodos de la invención se pueden aplicar a un sujeto que, en el momento del tratamiento, ha sido diagnosticado de la enfermedad o afección asociada con una expresión y/o actividad de la MAPT superior a la deseable, o a un sujeto que se considera que es susceptible de tener o desarrollar una enfermedad o afección asociada con una expresión y/o actividad de la MAPT superior a la deseable. En algunos aspectos de la invención, una enfermedad o afección asociada con un nivel de expresión y/o actividad de la MAPT superior al deseable es una enfermedad o afección aguda, y en determinados aspectos de la invención, una enfermedad o afección asociada con un nivel de expresión y/o actividad de la MAPT superior al deseable es una enfermedad o afección crónica.

En un ejemplo no limitante, un agente de ARNbc de la MAPT de la invención se administra a un sujeto con diagnóstico, sospecha o riesgo de pérdida de memoria, pérdida de función motora y/o aumento en el número y/o volumen de inclusiones neurofibrilares, que es una enfermedad en la que es deseable reducir la expresión de la MAPT. Los métodos de la invención pueden aplicarse al sujeto que, en el momento del tratamiento, ha sido diagnosticado con la enfermedad o afección, o a un sujeto que se considera que está en riesgo de tener o desarrollar la enfermedad o afección.

En otro ejemplo no limitante, un agente de ARNbc de la MAPT de la invención se administra a un sujeto con diagnóstico, sospecha o riesgo de pérdida de memoria, pérdida de función motora y/o aumento en el número y/o volumen de inclusiones neurofibrilares, que es una enfermedad en la que es deseable reducir la expresión de la MAPT. Los métodos de la invención pueden aplicarse al sujeto que, en el momento del tratamiento, ha sido diagnosticado con la enfermedad o afección, o a un sujeto que se considera que está en riesgo de tener o desarrollar la enfermedad o afección.

Una célula a la que se pueden aplicar los métodos de la invención incluye células que son células *in vitro*, *in vivo* y *ex vivo*. Las células pueden estar en un sujeto, en un cultivo y/o en una suspensión, o en cualquier otro estado o condición adecuada. Una célula a la que se puede aplicar un método de la invención puede ser una célula hepática, un hepatocito, una célula cardíaca, una célula pancreática, una célula cardiovascular, una célula renal u otro tipo de célula de vertebrado, incluidas células de mamífero humano y no humano. En determinados aspectos de la invención, una célula a la que se pueden aplicar los métodos de la invención es una célula sana y normal que no se conoce como una célula enferma. En determinadas realizaciones de la invención, una célula a la que se aplican los métodos y composiciones de la invención a una célula hepática, un

hepatocito, una célula cardíaca, una célula pancreática, una célula cardiovascular y/o una célula renal. En determinados aspectos de la invención, una célula control es una célula normal, pero se entenderá que una célula que tiene una enfermedad o afección también puede servir como célula control en circunstancias particulares, por ejemplo, para comparar los resultados en una célula tratada que tiene una enfermedad o afección frente a una célula no tratada que tiene la enfermedad o afección, etc.

Se puede determinar un nivel de actividad polipeptídica de la MAPT y compararlo con el nivel de control de la actividad polipeptídica de la MAPT, de acuerdo con los métodos de la invención. Un control puede ser un valor predeterminado, que puede tomar diversas formas. Puede ser un valor de corte único, como una mediana o una media. Se puede establecer en función de grupos comparativos, como en grupos que tienen niveles normales del polipéptido MAPT y/o de actividad polipeptídica de la MAPT y grupos que tienen niveles aumentados del polipéptido MAPT y/o de actividad polipeptídica de la MAPT. Otro ejemplo no limitante de grupos comparativos pueden ser grupos que tienen uno o más síntomas o un diagnóstico de una enfermedad o afección asociada al MAPT; grupos que no tienen uno o más síntomas o un diagnóstico de la enfermedad o afección; grupos de sujetos a los que se les ha administrado un tratamiento con ARNip de la invención; grupos de sujetos a los que no se ha administrado un tratamiento con ARNip de la invención. Por lo general, un control puede constar de individuos normales aparentemente sanos en un grupo etario apropiado o células por lo demás sanas. Se entenderá que los controles de acuerdo con la invención pueden ser, además de valores predeterminados, muestras de materiales probados en paralelo con los materiales experimentales. Algunos ejemplos incluyen muestras de poblaciones control o muestras control generadas a través de la fabricación para ser evaluadas en paralelo con las muestras experimentales. En algunas realizaciones de la invención, un control puede incluir una célula o sujeto que no tuvo contacto o no se trató con un agente de ARNbc de la MAPT de la invención y, en tales casos, un nivel de control de polipéptido MAPT y/o actividad de polipéptido MAPT se puede comparar con un nivel de polipéptido MAPT y/o actividad de polipéptido MAPT en una célula o un sujeto en contacto con un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención.

En algunas realizaciones de la invención, un nivel de polipéptido MAPT determinado para un sujeto puede servir como nivel de control con el cual se compara un nivel de polipéptido MAPT determinado para el mismo sujeto en un momento diferente. En un ejemplo no limitante, se determina un nivel de la MAPT en una muestra biológica obtenida de un sujeto al que no se le ha administrado el tratamiento con la MAPT de la invención. En algunas realizaciones, la

muestra biológica es una muestra de suero. El nivel de polipéptido MAPT determinado en la muestra obtenida del sujeto puede servir como valor de referencia o de control para el sujeto. Después de una o más administraciones de un agente de ARNbc de la MAPT al sujeto en un método de tratamiento de la invención, se pueden obtener una o más muestras de suero adicionales del sujeto y el nivel de polipéptido MAPT en la muestra o muestras posteriores se puede comparar con el control/valor de referencia para el sujeto. Dichas comparaciones se pueden utilizar para evaluar el inicio, la progresión o la regresión de una enfermedad o afección asociada a la MAPT. Por ejemplo, un nivel de polipéptido MAPT en la muestra de referencia obtenida del sujeto que es más alto que un nivel obtenido del mismo sujeto después de que se le ha administrado un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención indica regresión de la enfermedad o afección asociada a la MAPT e indica eficacia del agente de ARNbc de la MAPT administrado de la invención para el tratamiento de la enfermedad o afección asociada a la MAPT.

En algunos aspectos de la invención, los valores de uno o más de un nivel de polipéptido de la MAPT y/o actividad de polipéptido MAPT determinado para un sujeto pueden servir como valores de control para una comparación posterior de los niveles de polipéptido MAPT y/o actividad de la MAPT, en ese mismo sujeto, permitiendo así la evaluación de cambios a partir de una actividad de polipéptido MAPT “de referencia” en un sujeto. Por lo tanto, un nivel inicial del polipéptido MAPT y/o un nivel de actividad polipeptídica de la MAPT pueden estar presentes y/o determinarse en un sujeto y los métodos y compuestos de la invención pueden usarse para disminuir el nivel del polipéptido MAPT y/o la actividad polipeptídica de la MAPT, el nivel inicial sirve como nivel de control para ese sujeto.

Utilizando los métodos de la invención, pueden administrarse los agentes de ARNbc de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT de la invención a un sujeto. La eficacia de la administración y el tratamiento de la invención se puede evaluar cuando un nivel de polipéptido MAPT en una muestra de suero obtenida de un sujeto disminuye en al menos 0,5 %, 1 %, 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o más en comparación con un nivel previo a la administración de polipéptido MAPT en una muestra de suero obtenida del sujeto en un punto de tiempo anterior, o en comparación con un nivel control no contactado, por ejemplo, un nivel de polipéptido MAPT en una muestra de suero control. Se entenderá que un nivel de polipéptido MAPT y un nivel de actividad del polipéptido MAPT se correlacionan con un nivel de expresión del gen MAPT. Determinadas realizaciones de los métodos de la invención comprenden administrar un ARNbc de la MAPT y/o un agente antisentido de la MAPT de la invención a un sujeto en una cantidad eficaz para inhibir la expresión del gen MAPT y, de ese modo, reducir un nivel de polipéptido MAPT y reducir un nivel de actividad del

polipéptido MAPT en el sujeto.

Algunas realizaciones de la invención incluyen determinar la presencia, ausencia y/o una cantidad (también denominada en el presente documento como un nivel) de polipéptido MAPT en una o más muestras biológicas obtenidas de uno o más sujetos. La determinación se puede utilizar para evaluar la eficacia de un método de tratamiento de la invención. Por ejemplo, los métodos y composiciones de la invención se pueden utilizar para determinar un nivel de polipéptido MAPT en una muestra biológica obtenida de un sujeto previamente tratado con la administración de un agente de ARNbc de la MAPT y/o un agente antisentido de la MAPT de la invención. Un nivel de polipéptido MAPT determinado en una muestra de suero obtenida del sujeto tratado que es inferior en al menos un 0,5 %, 1 %, 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o más en comparación con un nivel previo al tratamiento de polipéptido MAPT determinado para el sujeto, o en comparación con un nivel de muestra biológica de control que no tuvo contacto, indica un nivel de eficacia del tratamiento administrado al sujeto.

En algunas realizaciones de la invención, una característica fisiológica de una enfermedad o afección asociada al MAPT determinada para un sujeto puede ser una determinación de control con la cual se compara una determinación de la característica fisiológica en el mismo sujeto en un momento diferente. En un ejemplo no limitante, una característica fisiológica tal como la reducción en la expresión de MAPT también puede evaluarse indirectamente midiendo una disminución en la actividad biológica de MAPT, por ejemplo, o patologías adicionales asociadas con niveles elevados de MAPT, preferentemente en muestras de sangre, suero o líquido cefalorraquídeo. Fenotípicamente, las tauopatías muestran una progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual. Las tauopatías son una clase heterogénea de trastornos neurodegenerativos progresivos caracterizados patológicamente por la presencia de agregados de Tau en el cerebro. Fenotípicamente, las tauopatías muestran una progresión variable del deterioro motor, cognitivo y conductual. Las tauopatías son una clase heterogénea de trastornos neurodegenerativos progresivos caracterizados patológicamente por la presencia de agregados de Tau en el cerebro.

El nivel de ARNm de la MAPT (y/u otra característica fisiológica de una enfermedad o afección asociada a la MAPT) determinada en la muestra obtenida del sujeto puede servir como valor de referencia o de control para el sujeto. Después de una o más administraciones de un agente de ARNbc de la MAPT al sujeto en un método de tratamiento de la invención, se pueden obtener una o más muestras de suero adicionales del sujeto y el nivel de ARNm de la MAPT y/o nivel de proteína MAPT en la muestra o muestras posteriores se comparan con el nivel de

control/referencia y/o la proporción, respectivamente, para el sujeto. Dichas comparaciones se pueden utilizar para evaluar el inicio, la progresión o la regresión de una enfermedad o afección asociada a la MAPT. Por ejemplo, un nivel de ARNm de la MAPT en la muestra de referencia obtenida del sujeto que es mayor que el nivel del ARNm de la MAPT determinado en una muestra obtenida del mismo sujeto después de que se le ha administrado un agente de ARNbc de la MAPT o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT de la invención indica una regresión de la enfermedad o afección asociada a la MAPT e indica la eficacia del agente de ARNbc de la MAPT de la invención administrado para el tratamiento de la enfermedad o afección asociada a la MAPT.

En algunos aspectos de la invención, los valores de una o más características fisiológicas de una enfermedad o afección asociada al MAPT determinadas para un sujeto pueden servir como valores de control para una comparación posterior de las características fisiológicas en ese mismo sujeto, permitiendo así la evaluación de cambios a partir de una característica fisiológica “de referencia” en un sujeto. Por lo tanto, una característica fisiológica inicial puede estar presente y/o determinarse en un sujeto, y los métodos y compuestos de la invención pueden usarse para disminuir el nivel de polipéptido MAPT y/o la actividad del polipéptido MAPT en el sujeto, y la determinación de la característica fisiológica inicial sirve como control para ese sujeto.

Utilizando los métodos de la invención, los agentes de ARNbc de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT de la invención pueden administrarse a un sujeto en una cantidad eficaz para tratar una enfermedad o afección asociada a la MAPT. Se pueden evaluar la eficacia de la administración y el tratamiento de la invención determinando un cambio en una o más características fisiológicas de la enfermedad o afección asociada a la MAPT. En un ejemplo no limitante, un nivel de ARNm de la MAPT en una muestra de suero obtenida de un sujeto disminuye al menos un 0,5 %, 1 %, 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o más en comparación con un lípido previo a la administración en una muestra de suero obtenida del sujeto en un momento anterior o en comparación con un nivel de control sin contacto, por ejemplo, un nivel de ARNm de la MAPT en una muestra de suero de control. Se entenderá como el nivel de ARNm de la MAPT, el nivel de proteína MAPT en el sujeto o el nivel de lípidos. Determinadas realizaciones de los métodos de la invención comprenden administrar un ARNbc de la MAPT y/o un agente antisentido de la MAPT de la invención a un sujeto en una cantidad eficaz para inhibir la expresión del gen MAPT y, por lo tanto, reducir el nivel de ARNm de la MAPT, el nivel de proteína MAPT en el sujeto, o de otro modo modular positivamente una característica fisiológica de una enfermedad o afección asociada a la MAPT en el sujeto.

Algunas realizaciones de la invención incluyen determinar la presencia, ausencia y/o un cambio en una característica fisiológica de una enfermedad o afección asociada al MAPT usando métodos, tales como, entre otros: (1) evaluar una o más muestras biológicas obtenidas de uno o más sujetos para determinar la característica fisiológica; (2) obtener imágenes de un sujeto (por ejemplo, entre otros, obtener una imagen hepática); y (3) o realizar un examen físico al sujeto. La determinación se puede utilizar para evaluar la eficacia de un método de tratamiento de la invención.

Kits

- 10 También están dentro del alcance de la invención los kits que comprenden uno o más agentes de ARNbc de la MAPT y/o agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT y las instrucciones para su uso en los métodos de la invención. Los kits de la invención pueden incluir uno o más agentes de ARNbc de la MAPT, agente polinucleotídico sentido de la MAPT y agente polinucleotídico antisentido de la MAPT que se pueden utilizar para tratar una enfermedad o
- 15 afección asociada a la MAPT. Los kits que contienen uno o más agentes de ARNbc de la MAPT, agentes polinucleotídicos sentido de la MAPT y agentes polinucleotídicos antisentido de la MAPT pueden prepararse para su uso en métodos de tratamiento de la invención. Los componentes de los kits de la invención se pueden envasar en medio acuoso o de forma liofilizada. Un kit de la invención puede comprender un vehículo compartimentado para recibir
- 20 en estrecho confinamiento en su interior uno o más medios contenedores o serie de medios contenedores, tales como tubos de ensayo, viales, matraces, frascos, jeringas o similares. Un primer medio contenedor o serie de medios contenedores puede contener uno o más compuestos, tales como un agente de ARNbc de la MAPT y/o un agente polinucleotídico sentido o antisentido de la MAPT. Un segundo medio contenedor o serie de medios contenedores puede contener un
- 25 agente diana, un agente de marcación, un agente de suministro, etc. que pueden incluirse como una parte de un agente de ARNbc de la MAPT y/o un agente polinucleotídico antisentido de la MAPT que se administrará en una realización de un método de tratamiento de la invención.

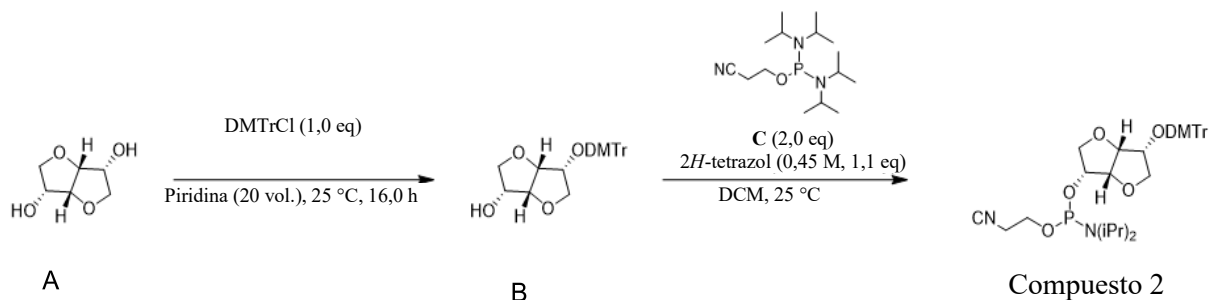
- Un kit de la invención también puede incluir instrucciones. Las instrucciones generalmente estarán por escrito y proporcionarán orientación para llevar a cabo un tratamiento incorporado
- 30 en el kit y para tomar una determinación basada en ese tratamiento.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar casos específicos de la práctica de la presente invención y no pretenden limitar su alcance. Como será evidente para un experto en la técnica, la presente invención encontrará aplicación en una variedad de composiciones y métodos.

Ejemplos

Ejemplo 1.

Compuesto de fosforamidita 2



Se agregó DMTrCl (232 g, 684 mmol, 1,0 eq) en piridina (400 ml) a la solución del compuesto de isomannida **A** (100 g, 684 mmol, 1,0 eq) en piridina (600 ml), y la mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. El análisis por LC-MS mostró que el compuesto **A** se había consumido por completo y detectó un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción resultante se diluyó con agua (500 ml), se extrajo con DCM (500 ml x 2), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para obtener el residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH = 100/1 a 50/1, Et₃N al 0,1 %) para obtener el compuesto **B** (150 g, rendimiento: 48,9 %) como un sólido de color amarillo.

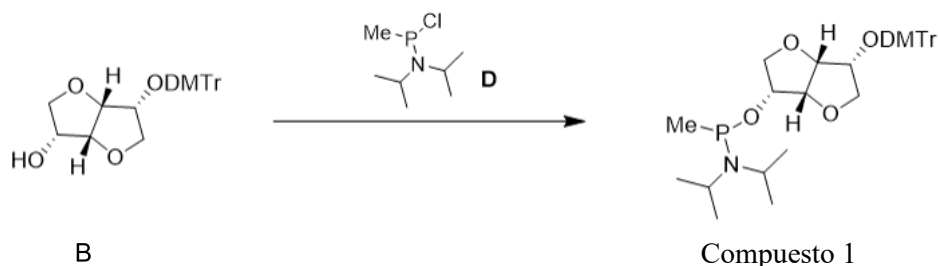
RMN ¹H: EC4783-404-P1B1_C (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,46 (br d, *J*=7,63 Hz, 2 H) 7,28 - 7,37 (m, 6 H) 7,19 - 7,25 (m, 1 H) 6,90 (br d, *J*=7,88 Hz, 4 H) 4,70 (d, *J*=6,50 Hz, 1 H) 3,99 - 4,09 (m, 6 H) 3,88 - 3,96 (m, 2 H) 3,83 (br dd, *J*=7,82, 6,94 Hz, 1 H) 3,74 (s, 6 H) 3,41 (br t, *J*=8,13 Hz, 1 H) 3,05 (t, *J*=8,44 Hz, 1 H) 2,85 (br t, *J*=7,50 Hz, 1 H).

Se agregó gota a gota 2*H*-tetrazol (0,45 M, 436 ml, 1,1 eq) a una solución del compuesto **B** (80,0 g, 178 mmol, 1,0 eq) en DCM (800 ml) a 25 °C en una atmósfera de N₂; luego, se agregó gota a gota el compuesto **C** (80,6 g, 267 mmol, 85,0 mL, 1,5 eq) en DCM (200 ml) a la mezcla. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1,0 hora. El análisis por LC-MS mostró que el compuesto **B** se había consumido por completo y detectó un pico principal con la masa deseada. La mezcla de reacción resultante se enfrió hasta -20 °C y se vertió en NaHCO₃ saturado y en hielo (500 ml), se extrajo con DCM (500 ml x 3), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado/salmuera=1:1 (300 ml/300 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío (35 °C) para obtener el residuo (100 ml). El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (Al₂O₃, DCM/MeOH=100/1 to 50/1, Et₃N al 0,1 %) para obtener el

compuesto 2 (77 g, 119 mmol, 66,5 % de rendimiento) como un sólido blanco.

RMN ¹H: EC4783-423-P1B1_C (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,22 (br d, *J*=7,50 Hz, 2 H) 7,05 - 7,14 (m, 6 H) 6,96 - 7,02 (m, 1 H) 6,67 (br dd, *J*=8,82, 1,81 Hz, 4 H) 3,95 - 4,07 (m, 2 H) 3,73 - 3,83 (m, 1 H) 3,62 - 3,72 (m, 2 H) 3,48 - 3,53 (m, 6 H) 3,27 - 3,37 (m, 3 H) 3,11 (s, 6 H) 2,82 (td, *J*=8,54, 2,31 Hz, 1 H) 2,47 - 2,63 (m, 3 H) 2,28 (br d, *J*=1,63 Hz, 3 H) 0,82 - 1,00 (m, 13 H).

Compuesto de fosforamidita 1

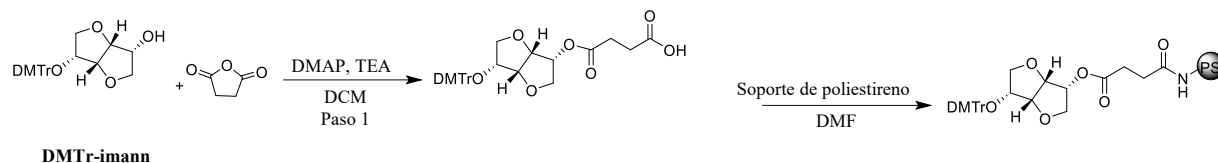


Se agregaron el compuesto **D** (607 mg, 3,34 mmol, 3,0 eq) y DIEA (432 mg, 3,34 mmol, 582 μl, 3,0 eq) a una solución del compuesto **B** (500 mg, 1,11 mmol, 1,0 eq) en DCM (5,0 ml) en una atmósfera de N₂ a 0-5 °C, la mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora. El análisis por LC-MS mostró que el compuesto **B** se había consumido por completo y se detectaron varios picos nuevos y ~70,9 % del compuesto deseado. La mezcla de reacción resultante se enfrió hasta -20 °C y se vertió en una solución saturada de NaHCO₃ (5,0 ml) a baja temperatura (0-5 °C), se extrajo con DCM (5,0 ml x 2), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado a baja temperatura (0-5 °C)/salmuera = 1:1 (5,0 ml/5,0 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para obtener el residuo (~5 ml). El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (Al₂O₃ alcalino, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 5/1, Et₃N al 0,1 %) para obtener el compuesto **1** (280 mg, 471 μmol, rendimiento 42,3 %) y se obtuvo como un sólido de color blanco.

RMN ¹H: EC10615-49-P1N (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,44 (br d, *J*=7,63 Hz, 2 H), 7,31 (br t, *J*=7,94 Hz, 6 H), 7,18 - 7,26 (m, 1 H), 6,89 (brd, *J*=8,00 Hz, 4 H), 4,08 - 4,13 (m, 1 H), 3,95 - 4,03 (m, 1 H), 3,84 - 3,93 (m, 1 H), 3,77 - 3,83 (m, 1 H), 3,74 (s, 6 H), 3,43 - 3,53 (m, 3 H), 3,38 (br d, *J*=6,75 Hz, 1 H), 2,94 - 3,04 (m, 1 H), 2,70 - 2,85 (m, 1 H), 1,09 - 1,15 (m, 12 H), 1,07 (br s, 3 H).

Se pueden preparar otras fosforamiditas de acuerdo con los procedimientos descritos en el presente documento y/o en técnicas anteriores, entre otros, los documentos US426 220 y WO02/36743.

Ejemplo 2. Preparación de un soporte sólido que comprende monómeros de fosforamiditas de la presente invención



5  representa la parte portadora de resina macroporosa de polietileno metilado con amina

Se agregó diclorometano (19,50 kg) al recipiente de vidrio de 50 litros con la protección de nitrógeno y se agitó. La temperatura se mantuvo a 20~30 °C, y se agregaron al recipiente de vidrio DMTr-imann (1,47 kg), trietilamina (1,50 kg), 4-dimetilaminopiridina (0,164 kg) y anhídrido succínico (1,34 kg). El sistema se mantuvo a 20~30 °C durante 18 horas, se tomaron
10 muestras y se dio por finalizada la reacción. Se agregó solución saturada de bicarbonato de sodio (22,50 kg) al sistema de reacción, se agitó durante 10-20 minutos y se dejó reposar para que se separe en capas. La fase orgánica se separó, y la fase acuosa se extrajo dos veces con diclorometano, y la fase orgánica se combinó y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para obtener el residuo formando un sólido de color gris a blanquecino
15 de 1,83 kg.

Se agregó N,N-dimetilformamida (23,50 kg) en un recipiente de vidrio de 100 litros y se agitó. La temperatura se mantuvo a 20~30 °C. Con protección de nitrógeno, se agregaron los productos del paso anterior, O-benzotriazol tetrametilurea hexafluorofosfato (0,33 kg) y N, N-diisopropiletilamina (0,13 kg), al recipiente de vidrio de 100 litros mencionado anteriormente
20 mediante un embudo de alimentación de sólidos y se agitaron durante 10~30 minutos y se descargaron en un barril de zinc de 50 l para su uso. Se agregó resina de amina metálica macroporosa (3,25 kg) (adquirida a Tianjin Nankai Hecheng Science and Technology Co., Ltd., número de lote HA2X1209, capacidad de carga 0,48 mmol/g) al reactor de síntesis en fase sólida de 100 litros mencionado anteriormente mediante el embudo de alimentación de sólidos, la
25 temperatura se mantuvo a 20~30 °C, se agregó N, N-dimetilformamida (21,00 kg + 21,00 kg) y la solución de reacción en el barril de zinc del paso anterior se agregó al reactor de síntesis en fase sólida. El sistema se sometió a una reacción de aislamiento térmico, y la carga sólida se controló hasta $\geq 250 \mu\text{mol/g}$, y el método de detección de carga fue UV. El sistema se filtró con presión de nitrógeno, la torta de filtración se lavó con N,N-dimetilformamida tres veces
30 (26,00kg+26,10kg+26,00kg), y la torta de filtración se dejó en el recipiente. Se agregaron CAP.A (acetonitrilo al 50 % y anhídrido acético al 50 %, 4,40 kg + 4,42 kg + 4,30 kg) y CAP.B (piridina

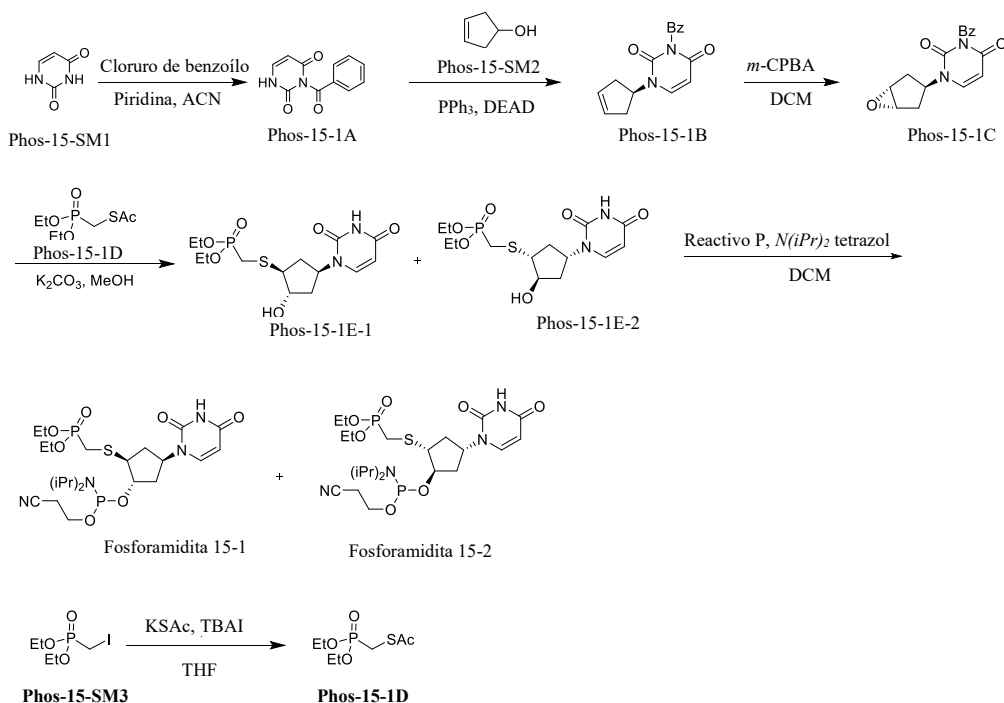
al 20 % y N-metilimidazol al 30 % y acetonitrilo al 50 %, 4,40 kg + 4,40 kg + 4,47 kg) en el recipiente de vidrio de 80 litros y se agitaron durante 3~8 minutos antes de su uso. Esta operación se repitió tres veces para adicionar la caperuza y se agregó acetonitrilo (18,00 kg + 18,00 kg + 18,00 kg + 17,50 kg + 17,50 kg) al recipiente de síntesis en fase sólida. Se filtró a presión tras burbujear nitrógeno durante 10~30 minutos. Esta operación se repitió cuatro veces, la torta de filtración se purgó en el recipiente de síntesis en fase sólida con nitrógeno durante 2-4 horas y, a continuación, se transfirió a un tanque de filtro prensa de 50 l. La temperatura se mantuvo a 15~30 °C, se continuó secando y, luego del secado, se obtuvo un producto sólido de color amarillo a blanco, peso: 3,516 kg.

- 10 El residuo de isomannida se puede agregar al extremo 5'-terminal o al extremo 3'-terminal de la cadena de oligonucleótidos mediante un método bien conocido por los expertos en la técnica, como el método abásico inverso (invab), y se agrega además a la diana y al grupo.

Ejemplo 3. Preparación de un mimético de fosforamidita de 5'-fosfato

15

Preparación de fosforamidita-15-1 enantiomérica y fosforamidita-15-2 enantiomérica



- 20 Se agregó cloruro de benzoilo (126 g, 893 mmol, 104 ml) a una solución que contenía uracilo (50,0 g, 446 mmol) en piridina (735 g, 9,29 mol, 750 ml) y acetonitrilo (1,50 l) a 0 °C; la solución de reacción se agitó a 20-25 °C durante 12,0 horas y la TLC mostró que el compuesto uracilo se había consumido por completo. La mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener un

residuo. El residuo se diluyó con agua fría (1,0 l) y se extrajo con acetato de etilo (1,0 l * 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro para obtener el residuo que se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, acetato de etilo/éter de petróleo = 1/10 a 1/1) para obtener un sólido blanco Phos-15-1A (63 g, rendimiento 65,3 %).

RMN ¹H: EC4783-420-P1N (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,96 (dd, *J*=8,4, 1,2 Hz, 2 H), 7,76-7,81 (m, 1 H), 7,67 (dd, *J*=7,6, 5,6 Hz, 1 H), 7,58-7,64 (m, 2 H), 5,75 (dd, *J*=7,6, 1,2 Hz, 1 H).

Se agregaron trifenilfosfina (11,5 g, 43,9 mmol) y azodicarboxilato de dietilo (7,64 g, 43,9 mmol, 7,98 ml) a una solución de los compuestos Phos-15-SM2 (4,0 g, 47,6 mmol) y Phos-15-1A (7,91 g, 36,6 mmol) en tetrahidrofurano (80 ml); la mezcla se agitó a 20-25 °C durante 16 horas. La LC-MS mostró que el compuesto Phos-15-1A se había consumido por completo. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el tetrahidrofurano. El residuo se diluyó con agua (80 ml) y, luego, se extrajo con acetato de etilo (80 ml * 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (80 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, MeOH/DCM=0/10 a 1/10) para obtener el compuesto Phos-15-1B (14 g, producto crudo) como un sólido blanco.

Con protección de nitrógeno, se calentó a una temperatura de 0 a 5 °C una mezcla del compuesto Phos-15-1B (7,0 g, 9,30 mmol) y ácido m-cloroperoxibenzoico (2,27 g, 11,1 mmol, 85 % de pureza) en diclorometano (70 ml). Tras 16 horas de reacción, la cromatografía en capa fina (TLC) mostró que el compuesto Phos-15-1B se había consumido por completo y se detectó una nueva mancha importante con una menor polaridad. Se ajustó lentamente el pH de la mezcla de reacción a 7~8 con una solución saturada de NaHSO₃ y NaHCO₃ (1:1); luego, se extrajo con acetato de etilo (70 ml * 3) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (700 ml). Se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (gel de sílice de malla 100-200) y se eluyó con acetato de etilo:éter de petróleo (1:30~1:1) para obtener el compuesto Phos-15-1C (1,2 g, producto crudo) como un sólido blanco.

Se agregaron KSAc (1,81 g, 15,8 mmol) y yoduro de tetrabutilamonio (TBAI; 531,4 mg, 1,44 mmol) a una solución del compuesto Phos-15-SM3 (4,0 g, 14,4 mmol) en tetrahidrofurano (24,0 ml) y la mezcla se agitó a 70 °C durante 4,0 horas. La LC-MS mostró que la materia prima Phos-15-SM3 se había consumido por completo y se detectó un pico principal con el peso molecular de la molécula diana esperada. La mezcla de reacción se enfrió y se concentró a presión reducida. El residuo sólido se eliminó por filtración con una almohadilla corta de gel de sílice y se enjuagó

con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío para obtener el compuesto Phos-15-1D (3,50 g, rendimiento del 98,5 %) como un aceite marrón. El compuesto Phos-15-1D se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

RMN ¹H: EC11950-13-P1B (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,96-4,07 (m, 4H) 3,27 (d, *J*=14,0 Hz, 2H) 2,40 (s, 3H) 1,22 (t, *J*=7,2 Hz, 6H).

Se agregaron carbonato de potasio (1,11 g, 8,05 mmol) y el compuesto Phos-15-1D (1,91 g, 8,45 mmol) a una solución del compuesto Phos-15-1C (1,20 g, 4,02 mmol) en etanol (15,0 ml) y la mezcla se agitó a 20-25 °C durante 3,0 horas. La TLC mostró que el compuesto Phos-15-1C se había consumido por completo y se detectó una nueva mancha importante con una mayor polaridad. La mezcla de reacción resultante se filtró, se diluyó con agua (20 ml), se extrajo con diclorometano (20 ml* 3); las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío para obtener un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, MeOH/DCM = 1/100 a 10/100) para obtener el compuesto Phos-15-1E como un aceite marrón (1,00 g, rendimiento 65,7 %, mezcla 1:1 del compuesto-1E-1 y el compuesto-1E-2 enantioméricos).

RMN ¹H: EC10615-82-P1N1 (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11,23 (br s, 1 H), 7,69 (d, *J*=8,0 Hz, 1 H), 5,58 (dd, *J*=8,0, 1,6 Hz, 1 H), 4,93 (q, *J*=8,8 Hz, 1 H), 3,96-4,17 (m, 5 H), 3,08-3,17 (m, 1 H), 3,03 (dd, *J* = 14,0, 2,0 Hz, 2 H), 2,38-2,47 (m, 1 H), 2,04-2,07 (m, 1 H), 1,82-1,90 (m, 1 H), 1,56-1,59 (m, 1 H), 1,25 (t, *J*=6,8 Hz, 6 H).

El compuesto Phos-15-1E puede obtener los enantiómeros Phos-15-1E-1 y Phos-15-1E-2 mediante resolución quiral. Condiciones de resolución: columna DAICELCHIRALPAK AD 40 mm, 140 ml/min, etanol:dióxido de carbono = 35:75. Se puede entender que cuando es necesario obtener fosforamidita-15-1 enantiomérica o fosforamidita-15-2 enantiomérica, siempre que se utilice el enantiómero correspondiente Phos-15-1E-1 o Phos-15-1E-2 como material de partida y se haga reaccionar con el reactivo de fósforo, es posible obtenerla.

En una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente, se agregó una solución de bis(diisopropilamino)(2-cianoetoxi)fosfina (reactivo P, 956 mg, 3,17 mmol, 1,01 ml) en diclorometano (0,5 ml) a una solución del compuesto Phos-15-1E (400 mg, 1,06 mmol) y sal de di-isopropilamina-tetrazolio (199 mg, 1,16 mmol) en diclorometano (4,0 ml) y la mezcla se agitó a 40 °C durante 1,0 h. La LC-MS mostró que el compuesto Phos-15-1E se había consumido por completo y que había varios picos nuevos y se detectó aproximadamente el 80 % del compuesto deseado. La mezcla de reacción resultante se enfrió hasta -20 °C y se vertió en una solución acuosa saturada y fría (0-5 °C) de bicarbonato de sodio (10 ml) y se extrajo con diclorometano (10 ml* 2), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa saturada y fría

(0-5 °C) de bicarbonato de sodio/salmuera (5 ml/5 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío para obtener un residuo (~2,0 ml). El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (Al₂O₃ básico, MeOH/DCM = 1/80 to 1/40, Et₃N al 0,1 %) para dar fosforamidita-15 como un aceite incoloro (350 mg, 0,6 mmol, rendimiento 57,2 %, mezcla 1:1 de fosforamidita-15-1 enantiomérica y fosforamidita-15-2 enantiomérica).

La enantiofosforamidita-15-1 o enantiofosforamidita-15-2 se pueden obtener a partir del correspondiente compuesto Phos-15-1E-1 o Phos-15-1E-2 obtenido mediante separación por SFC y purificación como material de partida, de acuerdo con el mismo procedimiento descrito anteriormente.

- 10 δ ppm 11,23 (br s, 1 H), 7,70 (d, J =8,0 Hz, 1 H), 5,55-5,60 (m, 1 H), 4,89 (q, J =8,4 Hz, 1 H), 4,29-4,42 (m, 1 H), 3,99-4,09 (m, 4 H), 3,65-3,84 (m, 2 H), 3,53-3,62 (m, 2 H), 3,35-3,41 (m, 1 H), 3,02 (dd, J =14,0, 8,0 Hz, 2 H), 2,76-2,79 (m, 2 H), 2,40-2,49 (m, 1 H), 2,15-2,25 (m, 1 H), 1,95-2,07 (m, 1 H), 1,65-1,75 (m, 1 H), 1,23-1,26 (m, 6 H) 1,12-1,21 (m, 12 H).

- 15 El método de preparación específico del compuesto Phos-15-1E-1 o Phos-15-1E-2 quiral es el siguiente:

Sistema: Waters SFC 150

Nombre de la columna: DAICELCHIRALCEL®AD

Modelo de columna: 250 * 50 mm, 10 m

Fase móvil A: CO₂ supercrítico

- 20 Fase móvil B: EtOH

Longitud de onda: 214 nm

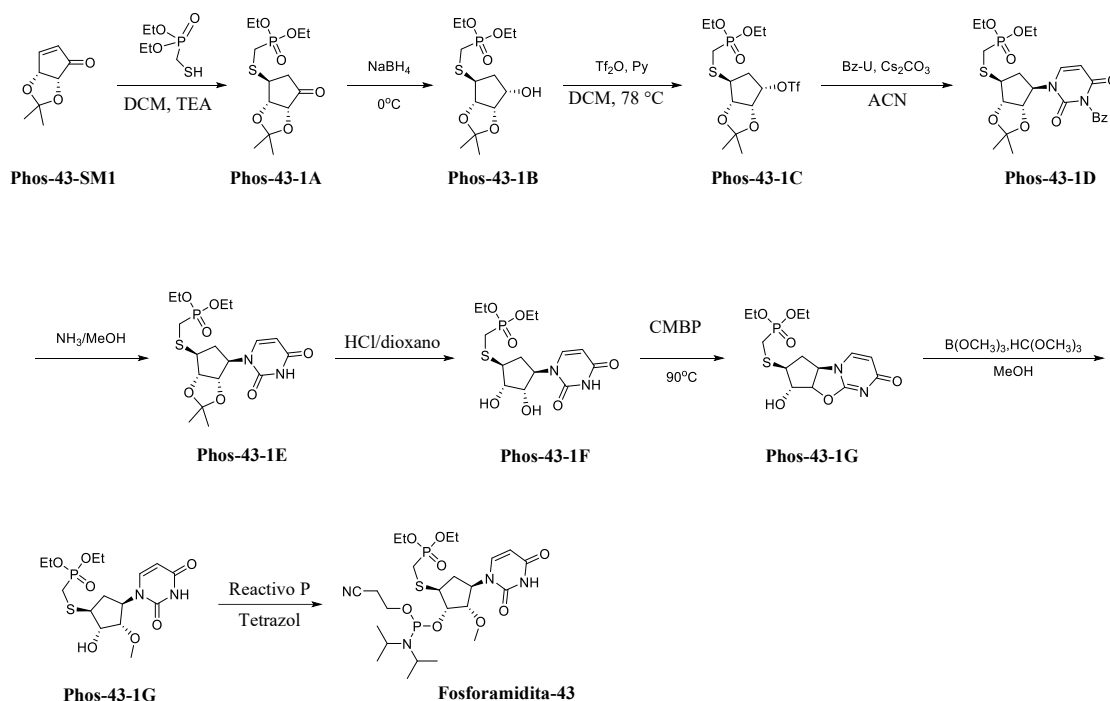
Velocidad de flujo: 140 ml/min

Temperatura de la columna: TA

Volumen de inyección: 7,0 ml Tiempo de ciclo: 10,0 min

- 25 Disolvente: CO₂ supercrítico: grado alimentario EtOH: grado redistilado;

Preparación de fosforamidita-43



Se agregó (3aR, 6aR)-2,2-dimetiltetrahidro-3aH-ciclopenta[d][1,3]dioxol-4(6aH)-ona (Phos-43-SM1, 16,2 g, 105 mmol, 1,0 eq), (mercaptometil)fosfonato de dietilo (19,3 g, 105 mmol, 1,0 eq) y diclorometano (200 ml) a un matraz de 500 ml. El matraz se agitó y se enfrió hasta 0-5 °C con protección de nitrógeno y, luego, se agregó trietilamina (1,06 g, 10,5 mmol, 0,1 eq) gota a gota. Una vez completada la adición, se llevó la temperatura a 25 °C y se agitó durante la noche con protección de nitrógeno. La LCMS detectó que la reacción se había completado y la solución de reacción se concentró al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna flash y se eluyó (EA: DCM = 0% -15 %) para lavar el producto. El producto se concentró al vacío para obtener 25 g de Phos-43-1A como un aceite amarillo claro, rendimiento 70,3 %.

LCMS: M+H=339,5

Se agregó Phos-43-1A (25 g, 73,9 mmol, 1,0 eq) y etanol (250 ml) al matraz de 500 ml. El matraz se agitó y enfrió hasta 0-5 °C con protección de nitrógeno; luego, se agregó borohidruro de sodio (3,1 g, 81,3 mmol, 1,1 eq) en tandas. Una vez completada la adición, se continuó agitando a 0-5 °C durante 0,5 h. La LCMS detectó que la reacción se había completado. Se agregó agua helada (200 ml) gota a gota a la solución de reacción y se agitó durante 10 min. Posteriormente, la mezcla se extrajo dos veces con diclorometano (500 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna flash y se eluyó (MeOH: DCM = 0 % -5 %) para lavar el producto. El producto se concentró al vacío para obtener 24,5 g de Phos-43-1B como un aceite amarillo claro. El rendimiento fue del 97,4 %.

LCMS: M+H=341,5

RMN ¹H: (400 MHz, CD₃CN), δ ppm 4,67-4,65 (d, *J*=8,0, 1 H), 4,47-4,42 (m, 2 H), 4,08-4,01 (m, 5 H), 3,27-3,25 (m, 1 H), 2,97-2,93 (d, *J*=16,0, 2 H), 2,03-1,99 (m, 1 H), 1,73-1,71 (m, 1 H), 1,38 (s, 3 H), 1,26-1,22 (m, 9 H).

- 5 Se agregaron Phos-43-1B (10 g, 29,4 mmol, 1,0 eq), piridina (7 g, 88,1 mmol, 3,0 eq) y diclorometano (100 ml) a un matraz de 250 ml. El matraz se agitó y se enfrió hasta -78 °C con protección de nitrógeno y, luego, se agregó anhídrido trifluorometanosulfónico (12,4 g, 44,1 mmol, 1,5 eq) gota a gota. Una vez completada la adición gota a gota, el matraz se mantuvo a -78 °C y se agitó con protección de nitrógeno durante 3 horas. La LCMS detectó que la reacción se había completado. La solución de reacción se vertió en 50 ml de agua helada y, luego, se extrajo dos veces con diclorometano (100 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío para obtener el producto crudo Phos-43-1C, que se utiliza directamente en el siguiente paso.

LCMS: M+H=473,4

- 15 Se agregaron Phos-43-1C (16 g, 33,8 mmol, 1,0 eq), 3-benzoiluracilo (8,8 g, 40,6 mmol, 1,2 eq), carbonato de cesio (22 g, 67,7 mmol) y acetonitrilo (200 ml) a un matraz de 500 ml. El matraz se agitó durante la noche a 25 °C con protección de nitrógeno. La LCMS detectó que la reacción se había completado, la solución de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna flash y el eluyente fue (MeOH:DCM=0 %-5 %) para lavar el producto. El producto se concentró al vacío para obtener 18 g de Phos-43-1D como un aceite marrón, con un rendimiento del 98,7 %.

LCMS: M+H=539,4

- 25 Se agregaron Phos-43-1D (18 g, 33,4 mmol, 1,0 eq) y metanol (180 ml) a un matraz de 500 ml. Se agregó metanol amoníaco (180 ml) gota a gota al matraz con protección de nitrógeno. Una vez completada la adición gota a gota, la mezcla se agitó a 25 °C durante 5 horas con protección de nitrógeno. La LCMS detectó que la reacción se había completado y la solución de reacción se concentró al vacío para obtener el producto crudo Phos-43-1E, que se utilizó directamente en el siguiente paso.

LCMS: M+H=435,4

- 30 Se agregaron Phos-43-1E (14,5 g, 33,4 mmol, 1,0 eq) y dioxano (180 ml) a un matraz de 500 ml. Se agregó clorhidrato de dioxano (4 M 180 ml) gota a gota y el matraz se agitó a 25 °C durante la noche con protección de nitrógeno. La LCMS detectó que la reacción se había completado y la solución de reacción se concentró al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo

se purificó mediante columna flash y el eluyente fue (MeOH:DCM=0 %-10%) para lavar el producto. El producto se concentró al vacío para obtener 5,2 g de Phos-43-1F como un sólido blanco, con un rendimiento del 39,5 %.

LCMS: M+H=395,4

- 5 Se agregaron Phos-43-1F (5,2 g, 13,2 mmol, 1,0 eq), tolueno (100 ml) y acetonitrilo (20 ml) a un matraz de 250 ml; luego, se agregó cianometilenti-n-butilfosfina (6,4 g, 26,5 mmol, 2,0 eq) y el matraz se agitó a 90 °C durante 48 h con protección de nitrógeno. La LCMS detectó que la reacción se había completado y la solución de reacción se concentró al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna flash con el eluyente
- 10 (MeOH:DCM=0 %-10 %) para eluir el producto. El producto se concentró al vacío para obtener 3,5 g de Phos-43-1G como un sólido blanco, con un rendimiento del 70,5 %.

LCMS: M+H=377,3

- Se agregaron Phos-43-1G (2,0 g, 5,3 mmol, 1,0 eq), metanol anhidrico (20 ml), borato de trimetilo (1,1 g, 10,6 mmol, 2,0 eq) y ortoformiato de metilo (0,56 g, 5,3 mmol, 1,0 eq) y
- 15 bicarbonato de sodio (44,5 mg, 0,52 mmol, 0,2 eq) en un frasco de 250 ml tapado. La mezcla anterior se calentó hasta 120 °C y se agitó durante 48 h. El frasco tapado se enfrió hasta temperatura ambiente. La LCMS detectó que la reacción se había completado y la solución de reacción se concentró al vacío para obtener un producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna flash con el eluyente (MeOH:DCM=0 %-10 %) para eluir el producto. El
- 20 producto se concentró al vacío para obtener 1,3 g de Phos-43-1H como un sólido blanco, con un rendimiento del 60 %.

LCMS: M+H=409,4

- Se agregaron Phos-43-1G (0,6 g, 1,47 mmol, 1,0 eq) y diclorometano anhidro (10 ml) al matraz de 50 ml y, luego, se agregaron tetrazol (0,13 g, 1,76 mmol, 1,2 eq) y bis(diisopropil)(2-
- 25 cianoetoxi)fosfina (0,66 g, 2,2 mmol, 1,5 eq) secuencialmente. La mezcla anterior se agitó a 25 °C durante 1 h con protección de nitrógeno. La LCMS detectó que la reacción se había completado. La solución de reacción se vertió en una solución acuosa de bicarbonato de sodio y se extrajo dos veces con diclorometano (20 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo
- 30 se purificó a través de una columna flash de gel de sílice y se eluyó con el eluyente (DCM:MeOH:TEA=0 %-5 %+0,2 % TEA). Se concentró al vacío a 35 °C para obtener fosforamidita-43 (0,89 g, rendimiento 100 %) como un aceite incoloro.

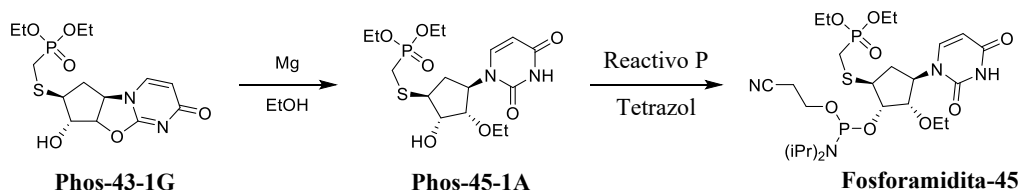
LCMS: M+H=609,6

RMN ¹H: (400 MHz, CD₃CN), δ ppm 8,97 (s, 1 H), 7,43-7,41 (d, J=8,0, 1 H), 5,61-5,59 (d, J=8,0, 1 H), 4,76 -4,69 (m, 1 H), 4,44-4,34 (m, 1 H), 4,14-4,04 (m, 5 H), 3,90-3,81 (m, 2 H), 3,69-3,62 (m, 2 H), 3,46 -3,44 (m, 1 H), 3,36-3,33 (d, J=12,0, 3 H), 2,97-2,87 (m, 2 H), 2,77-2,65 (m, 3 H), 1,67-1,56 (m, 1 H), 1,32-1,27 (m, 6 H), 1,24-1,18 (m, 12 H).

5 RMN ³¹P: (400 MHz, CD₃CN), δ ppm 150,03, 148,62; 23,44, 23,24.

El método de preparación de la fosforamidita-47 es el mismo que el de la fosforamidita-43, excepto que se utiliza el material de partida 5-metiluracilo como nucleobase.

Preparación de fosforamidita-45



10 Se agregaron virutas de magnesio (0,26 g, 10,6 mmol, 10,0 eq) y etanol absoluto (40 ml) a un frasco tapado de 100 ml y la mezcla anterior se calentó hasta 90 °C y se agitó durante 18 h. El frasco tapado se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó Phos-43-1G (0,4 g, 1,06 mmol, 1,0 eq), se calentó hasta 90 °C y se agitó durante 18 h. El frasco tapado se enfrió hasta temperatura ambiente. La LCMS detectó que la reacción no se había completado y que aproximadamente el

15 50 % se había convertido en Phos-45-1A. La solución de reacción se concentró al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna flash con un eluyente (MeOH:DCM=0 %-8 %) para eluir el producto. El producto se concentró al vacío para obtener 0,13 g de Phos-45-1A como un aceite amarillo claro, con un rendimiento del 29 %.

LCMS: M+H=423,4

20 Se agregaron Phos-45-1A (0,11 g, 0,26 mmol, 1,0 eq) y diclorometano anhidro (3 ml) al matraz de 50 ml; luego, se agregaron tetrazol (22 mg, 0,31 mmol, 1,2 eq) y bis(diisopropilamino)(2-cianoetoxi)fosfina (0,12 g, 0,4 mmol, 1,5 eq) secuencialmente. La mezcla anterior se agitó a 25 °C durante 1 h con protección de nitrógeno. La LCMS detectó que la reacción se había completado. La solución de reacción se vertió en una solución acuosa de bicarbonato de sodio y se extrajo

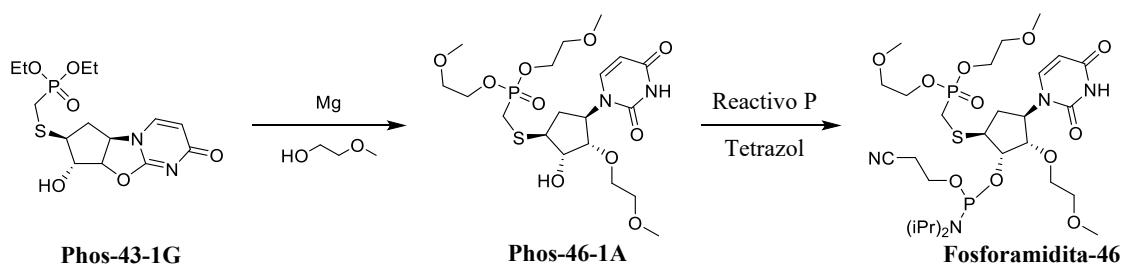
25 dos veces con diclorometano (10 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó a través de una columna flash de gel de sílice y se eluyó con el eluyente (DCM:MeOH:TEA=0 %-3%+0,2 % TEA). Se concentró al vacío a 35 °C para obtener fosfonamidita Phos-45 (0,1 g, rendimiento 61,7 %) como un aceite amarillo.

LCMS: M+H=623,5,

RMN ¹H: (400 MHz, CD₃CN), δ ppm 7,42-7,40 (d, J=8,0, 1 H), 5,61-5,59 (d, J=8,0, 1 H), 4,73-4,68 (m, 1 H), 4,34-4,30(m, 1 H), 4,12-4,06 (m, 5 H), 3,88-3,83 (m, 2 H), 3,68-3,65 (m, 2 H), 3,58-3,42 (m, 2 H), 2,97-2,86 (m, 3 H), 2,72-2,62(m,3 H), 1,65-1,53 (m, 1 H), 1,32-1,17 (m, 18 H), 1,13-1,10 (t, J=6,8, 3 H).

RMN ³¹P: (400 MHz, CD₃CN), δ ppm 149,85, 148,50; 23,46, 23,25.

Preparación de fosforamidita 46



- 10 Se agregaron virutas de magnesio (0,48 g, 20,0 mmol, 15,0 eq) y éter monometílico de etilenglicol anhidro (50 ml) a un frasco tapado de 100 ml y la mezcla anterior se calentó hasta 90 °C y se agitó durante 1 hora. El frasco tapado se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó Phos-43-1G (0,5g, 1,33 mmol, 1,0 eq), se calentó hasta 90°C y se agitó durante 18 h. El frasco tapado se enfrió hasta temperatura ambiente y la LCMS detectó que las materias primas de la
- 15 reacción se habían consumido por completo. La solución de reacción se transfirió a un matraz, se agregó ácido clorhídrico 0,5 N diluido gota a gota a 0 °C para ajustar el pH a 6 y se extrajo 5 veces con diclorometano (50 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante columna flash con el eluyente (MeOH:DCM=0 %-10 %) para eluir el producto.
- 20 El producto se concentró al vacío para obtener 0,13 g de Phos-46-1A como un aceite amarillo claro, con un rendimiento del 20 %.

LCMS: M+H=513,4.

- Se agregaron Phos-46-1A (0,1 g, 0,19 mmol, 1,0 eq) y diclorometano anhidro (3 ml) al matraz de 50 ml y, luego, se agregaron tetrazol (16 mg, 0,23 mmol, 1,2 eq) y bis(diisopropil)(2-cianoetoxi)fosfina (0,09 g, 0,3 mmol, 1,5 eq) secuencialmente. La mezcla anterior se agitó a 25 °C
- 25 durante 1 h con protección de nitrógeno. La LCMS detectó que la reacción se había completado. La solución de reacción se vertió en una solución acuosa de bicarbonato de sodio y se extrajo dos veces con diclorometano (10 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato

de sodio anhidro y se concentraron al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó a través de una columna flash de gel de sílice y se eluyó con el eluyente (DCM:MeOH:TEA=0 %-5 %-0,2 % TEA). Se concentró al vacío a 35 °C para obtener fosforamidita Phos-46 (93 mg, rendimiento 66,9%) como un aceite amarillo.

5 LCMS: M+H=713,6.

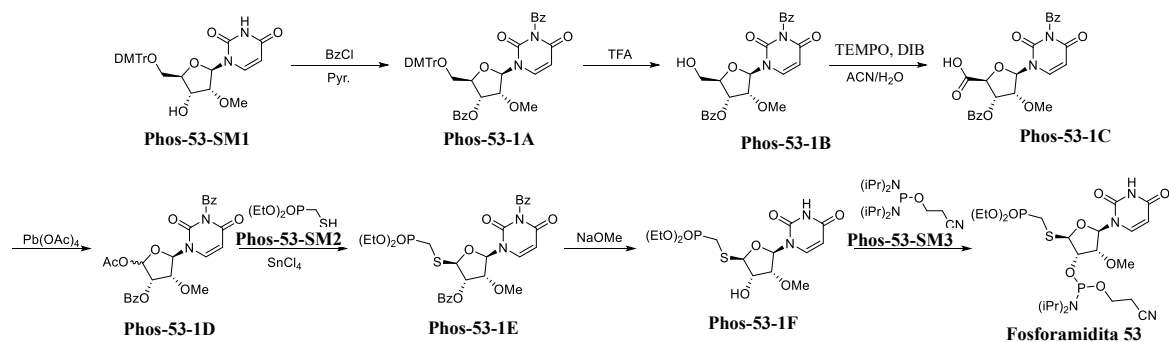
RMN ¹H: (400 MHz, CD₃CN), δ ppm 8,92 (s, 1 H), 7,47-7,44 (dd, J=8,0, J=2,8, 1 H), 5,64-5,62 (d, J=8,0, 1 H), 4,78-4,68 (m, 1 H), 4,42-4,22 (m, 2H), 4,18-4,15 (m, 4 H), 3,92-3,85 (m, 2 H), 3,78-3,66 (m, 3 H), 3,60-3,52 (m, 5 H), 3,48-3,45 (m, 3 H), 3,36-3,35 (dd, J=2,4, J=0,8, 6 H), 3,28-3,27 (d, J=5,6, 3 H), 3,03-2,94 (m, 2 H), 2,75-2,63(m,3 H), 1,65-1,53 (m, 1 H), 1,22-1,17 (m, 12 H).

RMN ³¹P: (400 MHz, CD₃CN), δ ppm 149,85, 148,42; 24,43, 24,22.

Los análogos de nucleósidos modificados con 5'-fosfonato descritos en el presente documento se pueden preparar utilizando métodos similares o vías de síntesis bien conocidas en la técnica.

El compuesto de fosforamidita descrito aquí se acopla al extremo 5' del oligonucleótido para
15 obtener un nucleótido 5' terminal, como se describe en los documentos CN110072530A y CN103154014A, y cada grupo fosfonato tiene un grupo protector de hidroxilo; los átomos, tales como átomos de oxígeno que contienen dos protecciones de metilo o etilo, eliminan uno o ambos de los grupos metilo o etilo de acuerdo con el paso de desprotección utilizado. En algunas realizaciones, se utiliza una solución de desetilación de carbonitrilo:yoduro de
20 trimetilsililo:piridina e=50:2:2 (v/v/v) para eliminar la protección de etilo.

Preparación de fosforamidita-53



Se agregó BzCl (31,34 g, 5,0 eq) gota a gota a 0 °C a una mezcla de Phos-53-SM1 (25,00 g, 1,0
25 eq.) y DMAP (2,72 g, 0,5 eq) en piridina (250 ml) y se agitó a 24 °C durante 18 h. El análisis por LCMS indicó que se había generado Phos-53-1A y se había consumido Phos-53-SM1. La mezcla se inactivó con MeOH y se evaporó a presión reducida para obtener el crudo que se

utilizó directamente para el siguiente paso. Datos analíticos: MS: $[M-H]^- = 768$.

Se agregó TFA (15 ml) a una solución de Phos-53-1A (100 g, crudo) en DCM (500 ml) y se agitó a 24 °C durante 2 horas. El análisis por LCMS indicó que se había consumido Phos-53-1A y se había generado Phos-53-1B. La mezcla se inactivó con MeOH y se evaporó a presión reducida para obtener el crudo que se purificó por cromatografía en gel de sílice con un gradiente de MeOH en DCM (0-50 %) para obtener Phos-53-1B (20 g, 96 % en dos pasos). Datos analíticos: $[M+H]^+ = 467$.

Se agregó 4-OH TEMPO (2,95 g, 0,4 eq) y DIB (27,62 g, 2,0 eq) a una solución de Phos-53-1B (20 g, 1,0 eq) en ACN (210 ml) y H₂O (140 ml) y se agitó a 24 °C durante 18 h. Se agregaron 4-OH TEMPO (1,5 g, 0,2 eq) y DIB (13 g, 0,95 eq) a la mezcla y se agitó a 24 °C durante 4 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo. La capa orgánica se separó y se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para obtener el crudo que se purificó por cromatografía en gel de sílice (MeOH en DCM = 0-10 %) para obtener Phos-53-1C (26 g, cuant.). Datos analíticos: MS: $[M+H]^+ = 481$.

Se agregó Pb(OAc)₄ (71,98 g, 3,0 eq) a una solución de Phos-53-1C (26 g, 1,0 eq) en THF (500 ml) y se agitó a 24 °C durante 18 horas. El análisis por LCMS indicó que se había consumido Phos-53-1C y se había generado Phos-53-1D. La mezcla se inactivó con agua y se diluyó con EA y, luego, se filtró a través de una almohadilla de Celite. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener el crudo que se purificó por cromatografía en gel de sílice con un gradiente de EA en PE (0-60 %) para obtener Phos-53-1D (11,2 g, 53 % en dos pasos). Datos analíticos: MS: $[M+H]^+ = 495$.

Se agregó SnCl₄ (0,1 M, 17 mL, 1,05 eq) gota a gota a 0 °C a una solución de Phos-53-1D (8,0 g, 1,0 eq) en DCM (80 ml) y se agitó a 23 °C durante 20 min. Se agregó Phos-53-SM2 (3,3 g, 1,1 eq) a la mezcla anterior y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El análisis por LCMS indicó que se había consumido Phos-53-1D y se había generado Phos-53-1E. La mezcla se enfrió con agua y se diluyó con EA. La capa orgánica se separó y se lavó con una solución acuosa de NaHCO₃ saturada, luego salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para obtener el crudo (14 g). Datos analíticos: MS: $[M+H]^+ = 619$.

Se agregó NaOMe (10,2 g, 2,5 eq, 30 % peso en MeOH) a una solución de Phos-53-1E (14 g, crudo) en MeOH (150 ml) y se agitó a 25 °C durante 1 hora. El análisis por LCMS indicó que se había consumido Phos-53-1E y se había generado Phos-53-1F. La mezcla se neutralizó con AcOH y se concentró para obtener el crudo que se purificó por cromatografía en gel de sílice con un gradiente de MeOH en DCM (0-10 %) para obtener Phos-53-1F (970 mg, 15 % en dos pasos). Datos analíticos: MS: $[M+H]^+ = 411$.

Se agregó Phos-53-SM3 (1,425 g, 2,0 eq) a una mezcla de Phos-53-1F (970 mg, 1,0 eq) y tetrazol (265 mg, 1,6 eq) en DCM (10 ml) y se agitó a 24 °C durante 1 hora. El análisis por LCMS indicó que se había consumido Phos-53-1F y se había generado Phos-53. La mezcla se lavó con una solución acuosa de NaHCO₃ saturada y, luego, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener el crudo que se purificó por fase inversa para obtener fosforamidita 53 (1,1 g, 76 %). Datos analíticos: MS: [M+H]⁺=611,

RMN ¹H (400 MHz, CD₃CN) δ 9,10 (s, 1H), 7,62 (t, 1H), 6,01 (dd, 1H), 5,62 (dd, 1H), 5,48 (dd, 1H), 4,32 (dddd, 1H), 4,12-3,92 (m, 5H), 3,83-3,64 (m, 2H), 3,61-3,49 (m, 2H), 3,30 (d, 3H), 3,00-2,71 (m, 2H), 2,60 (m, 2H), 1,21-1,15 (m, 6H), 1,13-1,08 (m, 1H).

Se pueden preparar otras fosforamiditas miméticos de 5'-fosfonato aquí descritos utilizando métodos similares o rutas sintéticas bien conocidas en la técnica. El compuesto de fosforamidita mimético de 5'-fosfonato descrito en el ejemplo se acopla al extremo 5'-terminal del oligonucleótido para obtener un nucleótido 5'-terminal bien conocido en la técnica, tal como se describe en los documentos CN110072530A y CN103154014A, y cada grupo fosfonato tiene un grupo protector de hidroxilo; los átomos, tales como átomos de oxígeno que contienen dos protecciones de metilo o etilo, eliminan uno o ambos de los grupos metilo o etilo de acuerdo con el paso de desprotección utilizado. En algunas realizaciones, se utiliza una solución de desetilación de carbonitrilo:yoduro de trimetilsililo:piridina e=50:2:2 (v/v/v) para eliminar la protección de etilo. En algunas realizaciones, se introduce fosforamidita 53 en el extremo 5'-terminal de la cadena antisentido produciendo un nucleótido phos-53 y/o phos-53* en el extremo 5'-terminal.

Ejemplo 4. Síntesis de agentes de ARNi de la MAPT.

Las cadenas dobles del agente de ARNi de la MAPT que se muestran en las Tablas 2 a 3, mencionadas anteriormente, se sintetizaron según los siguientes procedimientos generales:

Se sintetizaron secuencias de cadena sentido y antisentido del ARNip en sintetizadores de oligonucleótidos utilizando un método de síntesis en fase sólida bien establecido basado en la química de la fosforamidita. La propagación de la cadena de oligonucleótidos se logra a través de ciclos de 4 pasos: una desprotección, una condensación, una adición de una caperuza y un paso de oxidación o sulfuración para la adición de cada nucleótido. Las síntesis se realizaron en un soporte sólido hecho de vidrio de poro controlado (CPG, 1000 Å). Las fosforamiditas monoméricas se pueden adquirir de un proveedor o pueden ser los compuestos de fosforamidita del Ejemplo 1. Los compuestos de fosforamidita presentes en el presente documento pueden

unirse al extremo 3' como una fosforamidita monomérica y, además, unirse al soporte sólido de CPG. En el caso de unión al extremo 5'-terminal, los compuestos de fosforamidita pueden usarse para la reacción de acoplamiento final y pueden conjugarse además con ligandos diana si es necesario.

5 Las fosforamiditas con un grupo de ligandos GalNAc (fosforamiditas GLS-5* o GLS-15* como ejemplos no limitantes) se publicaron en el documento WO2023/045995A1 (incorporado en su totalidad en el presente documento). Para los ARNip utilizados para el cribado *in vitro* (Tabla 2), se llevaron a cabo las síntesis a escala de 2 μ mol y para los ARNip utilizados para las pruebas *in vivo* (Tabla 3), las síntesis se llevaron a cabo a una escala de 5 μ mol o mayor. Cuando el ligando

10 GalNAc (fosforamiditas GLO-n, como ejemplos no limitantes se publicaron en el documento WO2023/045995A1 [incorporado en su totalidad en el presente documento]) está unido al extremo 3' de la cadena sentido, se utilizó un soporte sólido CPG unido al ligando GalNAc. Cuando el ligando GalNAc (GLS-5* o GLS-15*, como ejemplo no limitante, se unen al extremo

15 5' de la cadena sentido, las fosforamiditas GLS-5* o GLS-15* con grupo de ligando GalNAc se publicaron en el documento WO2023/045995A1 [incorporado en su totalidad en el presente documento]) está unido al extremo 5' de la cadena sentido, se utilizó una fosforamidita GalNAc para la última reacción de acoplamiento. Se utilizó ácido tricloroacético (TCA) al 3 % en diclorometano para la desprotección del grupo protector 4,4'-dimetoxitritilo (DMT). Se utilizó 5-etiltio-1*H*-tetrazol como activador. Se utilizó I₂ en THF/Py/H₂O y disulfuro de fenilacetilo

20 (PADS) en piridina/MeCN para las reacciones de oxidación y sulfuración, respectivamente. Después del paso final de síntesis en fase sólida, el oligómero unido al soporte sólido se escindió y los grupos protectores se eliminaron mediante tratamiento con una solución en volumen 1:1 de 40 % en peso de metilamina en agua y una solución de hidróxido de amonio al 28 %. Para la síntesis de ARNip utilizados para el cribado *in vitro*, se concentró la mezcla cruda. El sólido

25 restante se disolvió en NaOAc 1,0 M y se agregó EtOH bien frío para precipitar un producto monocatenario en la forma de una sal de sodio, que se utilizó para la hibridación sin purificación adicional. Para la síntesis de ARNip utilizados para pruebas *in vivo*, el producto crudo de cadena sencilla se purificó aún más mediante HPLC de fase inversa de apareamiento iónico (IP-RP-HPLC). El producto oligonucleotídico monocatenario purificado de IP-RP-HPLC se convirtió

30 en sal de sodio mediante la disolución en NaOAc 1,0 M y la precipitación mediante la adición de EtOH enfriado con hielo. Se llevó a cabo la hibridación en agua de oligonucleótidos en cantidades equimolares de las cadenas sentido y antisentido complementarias para formar el producto de ARNip de doble cadena, el cual se liofilizó para obtener un sólido blanco y esponjoso.

35 En determinados estudios, un método utilizado para unir un grupo diana que comprende GalNAc

(también denominado aquí como compuesto de suministro de GalNAc) al extremo 5' de una cadena sentido incluyó el uso de una fosforamidita de GalNAc (fosforamiditas GLS-5* o GLS-15*) en el último paso de acoplamiento en la síntesis en fase sólida, utilizando un proceso sintético como el proceso que se utiliza si se realiza la propagación de la cadena de oligonucleótidos añadiendo un nucleótido al extremo 5' de la cadena sentido.

En algunos estudios, un método utilizado para unir un grupo diana que comprende GalNAc en el extremo 3' de una cadena sentido comprende un soporte sólido (CPG) que incluía GLO-n. En otros estudios, un método utilizado para unir un grupo diana que comprende GalNAc en el extremo 3' de una cadena sentido comprende la unión de un grupo diana GalNAc al soporte sólido CPG mediante un enlace éster y utilizar el CPG resultante con el grupo diana GalNAc unido cuando se sintetiza la cadena sentido, lo que da como resultado que el grupo diana GalNAc queda unido al extremo 3' de la cadena sentido.

Los residuos de imann se pueden agregar al extremo 5' o al extremo 3' de la cadena de oligonucleótidos mediante un método bien conocido por los expertos en la técnica, como el método de residuos abásicos invertidos (invab) y/o agregando posteriormente la diana al grupo diana de GalNAc.

Ejemplo 5. Detección *in vitro* de cadenas dobles de ARNip de la MAPT

Las células Huh7 se tripsinizaron y se ajustaron a la densidad adecuada, se mezclaron con los complejos de MAPT-psiCHECK^(TM)-2 y Lipofectamina 2000 (Invitrogen-11668-019) y se sembraron en placas de 96 pocillos. Las células se transfectaron con ARNip de prueba o un ARNip de control utilizando Lipofectamine RNAiMax (Invitrogen - 13778-150) al mismo tiempo de la siembra siguiendo el protocolo según la recomendación del fabricante. Los ARNip se evaluaron en dos concentraciones (0.5 nM y 5 nM) por triplicado.

Día 1, transfección con MAPT-psiCHECK^(TM)-2 (una placa)

(1) Transferir 2,5 µg de plásmido vector MAPT-psiCHECK^(TM)-2 a un tubo Eppendorf sin ARNasa (mezcla de solución n.º 1).

(2) Agregar tripsina para disociar las células Huh7 en un matraz y contabilizar las células usando el contador Vi-Cell y ajustar la densidad celular a 1×10^5 /ml.

(3) Transferir 7,5 µl de Lipofectamina 2000 (Invitrogen-11668-019) al tubo de mezcla de solución n.º 1 y mezclar.

(4) Agregar la solución del Paso 3 a la suspensión celular, mezclar y dispensar la suspensión en

la placa de 96 pocillos (100 µl/pocillo).

Día 2, transfección del ARNip

(1) Diluir el reactivo Lipofectamine®RNAiMAX con el medio Opti-MEM®.

(2) Diluir el ARNip con agua sin ARN para preparar una solución madre 12×.

5 (3) Mezclar un volumen igual de ARNip y RNAiMax diluido. Incubar la mezcla a temperatura ambiente durante 15 min para permitir la formación del complejo.

(4) Agregar 45 µl/pocillo de la mezcla de compuesto Lipofectamine® RNAiMAX (Opti-MEM) en 225 µl/pocillo de medio DMEM recién preparado y desechar los sobrenadantes en la placa de ensayo, agregar 120 µl/pocillo de la mezcla de compuesto en placas de 96 pocillos.

10 (5) Ningún pocillo del compuesto de control se definió como células transfectadas con MAPT-psiCHECK^(TM)-2 y sin tratamiento con ARNip; el control en blanco fueron pocillos que contenían solo células.

Día 3, ensayo de luciferasa Dual-Glo®

15 (1) Agregar el reactivo a la placa de ensayo, esperar y dejar transcurrir 10 minutos para permitir que se produzca la lisis celular.

(2) Transferir 100 µl de lisados celulares a una placa y, luego, medir la luminiscencia Firefly.

(3) Agregar 50 µl de reactivo Dual-Glo® Stop & Glo® a las placas de ensayo y mezclar, dejar transcurrir 10 minutos y, luego, medir la luminiscencia Renilla.

(4) Cálculo de la expresión relativa

20 Análisis de datos

Relación de pocillo de muestra = (muestra de luminiscencia Renilla-blanco de fondo)/ (muestra de luminiscencia Firefly-blanco de fondo)

Relación del pocillo de control sin compuesto = (control luminiscencia Renilla-blanco de fondo)/ (muestra de control luminiscencia Firefly-blanco de fondo)

25 % de inhibición = 100 - (relación del pocillo de muestra/relación promedio del control sin compuesto) × 100 %

Las secuencias de cadena doble utilizadas corresponden a las que se muestran en las Tablas 5 a 6.

30 La Tabla 5 proporciona resultados experimentales de estudios *in vitro* que utilizan diversos agentes de ARNi de la MAPT para inhibir la expresión de la MAPT. Las secuencias de cadena

doble utilizadas corresponden a las que se muestran en la Tabla 2.

Cadena doble AV n.º	% de inhibición promedio (media ± SD)	
	5 nM	0,5 nM
AV03728	-3,75±9,00	-6,50±7,47
AV03729	31,25±5,39	3,18±6,40
AV03730	32,44±6,90	8,58±10,77
AV03731	23,92±3,58	-14,47±4,24
AV03732	46,25±5,58	1,64±7,08
AV03733	51,55±5,66	9,83±7,92
AV03734	42,12±6,28	12,81±2,14
AV03735	40,80±2,29	16,82±3,84
AV03736	46,75±6,72	-3,15±5,29
AV03737	35,07±5,43	-21,56±2,81
AV03738	7,69±3,09	-8,54±12,31
AV03739	46,71±0,66	1,21±19,37
AV03741	48,29±1,47	11,33±16,11
AV03743	29,15±3,38	4,45±5,80
AV03744	39,30±3,51	14,28±4,13
AV03745	20,71±5,49	-14,86±7,33
AV03746	54,40±11,71	19,16±4,70
AV03747	44,08±5,54	4,21±5,09
AV03748	26,37±3,71	-15,31±11,45

AV03749	20,65±10,49	-2,90±3,65
AV03750	60,45±5,16	23,42±5,39
AV03751	28,33±4,63	0,44±10,64
AV03752	50,68±5,59	15,57±5,99
AV03753	8,17±8,83	-33,71±3,83
AV03754	54,43±5,29	23,53±4,90
AV03755	5,92±5,64	-9,12±6,80
AV03756	26,43±8,49	3,13±9,69
AV03757	27,05±3,36	2,57±3,03
AV03761	23,78±2,50	-5,82±19,78
AV03764	33,54±5,17	5,90±8,15
AV03765	42,52±4,26	12,67±3,24
AV03768	57,98±7,00	21,13±7,27
AV03771	38,85±5,72	1,07±2,50
AV03779	43,75±5,54	3,43±3,14
AV03791	44,93±6,69	20,23±5,37
AV03793	53,42±5,73	12,84±6,45
AV03794	46,23±1,14	7,70±11,35
AV03795	52,68±4,13	0,66±14,20
AV03798	67,56±3,15	39,55±5,94
AV03799	50,96±3,56	31,72±5,45
AV03800	48,05±9,64	14,14±3,74

AV03801	6,04±18,49	-11,97±6,95
AV03802	47,42±10,27	12,80±3,98
AV03803	42,69±7,55	2,92±1,89
AV03804	61,36±4,84	43,00±5,68
AV03807	56,18±0,58	37,62±3,16
AV03808	25,13±3,05	10,04±9,67
AV03809	54,52±1,17	23,34±10,04
AV03810	1,25±13,07	0,98±9,01
AV03811	10,41±5,63	11,80±2,52
AV03812	40,76±3,18	8,67±7,66
AV03813	28,59±3,26	5,51±8,71
AV03814	13,81±14,00	2,09±4,06
AV03815	34,19±6,56	8,80±7,25
AV03816	31,63±8,28	6,65±0,76
AV03817	61,39±4,31	43,83±5,93
AV03818	53,40±5,74	5,43±12,91
AV03819	6,32±4,22	0,76±1,83
AV03820	35,16±5,82	13,95±15,05
AV03821	-0,37±9,52	-5,90±10,30
AV03822	42,92±4,60	27,23±3,12
AV03823	32,16±10,12	8,29±6,60
AV03825	32,08±3,60	6,36±6,63

AV03826	60,11±5,13	13,62±10,84
AV03827	63,03±10,53	20,89±3,24
AV03828	47,25±5,28	-1,29±3,26
AV03829	62,71±2,04	12,90±8,60
AV03831	79,56±1,94	62,16±10,27
AV03832	75,66±6,64	38,35±6,89
AV03833	65,72±5,25	21,43±14,84
AV03834	62,75±5,36	34,54±6,44
AV03835	77,18±5,27	71,79±2,49
AV03836	70,54±3,45	63,11±3,63
AV03837	76,94±4,67	51,71±4,75
AV03838	75,17±4,47	57,04±2,27
AV03839	64,12±3,33	23,05±7,57
AV03840	63,26±8,76	4,81±7,68
AV03841	51,19±6,87	14,75±10,24
AV03842	70,23±2,67	32,15±8,36
AV03843	8,03±11,11	2,39±12,84
AV03844	12,04±4,29	0,13±8,67
AV03845	15,08±22,24	9,26±7,42
AV03846	16,64±9,90	15,92±12,38
AV03847	9,43±18,06	13,73±16,87
AV03848	3,02±19,90	5,36±22,51

AV03849	-18,55±12,79	-7,46±25,01
AV03850	19,46±2,41	2,61±7,12
AV03851	8,39±8,63	4,58±2,65
AV03852	-3,89±7,53	10,40±22,14
AV03853	10,87±15,36	-2,30±16,24
AV03854	5,74±1,65	3,61±9,55
AV03855	15,83±8,99	16,28±9,98
AV03856	-22,70±12,09	-10,04±17,18
AV03857	1,48±9,36	-15,04±8,34
AV03858	16,10±6,93	12,79±4,81
AV03859	5,31±10,92	1,87±11,62
AV03860	15,29±15,88	-2,10±13,00
AV03861	11,21±5,12	12,03±8,47
AV03862	24,62±8,33	16,73±7,92
AV03863	21,81±10,11	0,82±15,24
AV03864	-11,57±20,31	6,95±21,73
AV03865	-1,44±5,77	-1,17±7,67
AV03866	5,68±10,89	2,26±8,42
AV03867	2,61±7,07	10,00±5,60
AV03868	4,00±8,13	9,62±14,53
AV03869	3,01±6,33	5,42±16,56
AV03870	-2,34±5,96	8,47±9,11

AV03871	7,80±19,47	4,81±13,38
AV03872	-33,16±7,77	-74,66±24,29
AV03873	-26,94±14,87	-31,04±5,02
AV03874	-26,74±9,41	-36,03±11,97
AV03875	-17,97±22,75	-26,68±12,82
AV03876	-31,98±11,52	-16,84±29,85
AV03877	-0,81±26,89	-18,85±17,07
AV03878	-24,92±6,87	-16,60±20,45
AV03879	23,88±11,98	1,72±4,87
AV03880	-29,74±14,68	-3,51±35,47
AV03881	-26,97±17,44	-2,24±6,32
AV03882	-19,59±13,44	-1,33±41,75
AV03883	-3,75±13,95	-1,08±24,10
AV03884	-20,65±14,71	-1,29±20,51
AV03885	-31,09±5,28	-0,67±24,60
AV03886	-31,95±13,67	0,20±27,80
AV03887	-15,47±14,59	-3,20±17,75
AV03888	-31,99±10,74	-12,79±14,63
AV03889	-17,91±14,64	-14,28±27,40
AV03890	-5,94±9,17	-9,76±4,73
AV03891	-0,57±25,07	15,90±13,29
AV03892	11,34±11,05	-6,91±23,88

AV03893	-0,59±7,23	-3,53±4,95
AV03894	15,47±7,73	-2,85±20,42
AV03895	13,13±21,28	7,29±14,66
AV03896	-26,36±26,50	7,53±13,41
AV03897	-6,91±23,00	-9,66±22,23
AV03898	-1,40±3,60	5,09±24,17
AV03899	-1,08±17,49	-4,39±23,55
AV03900	1,87±17,37	5,04±20,63
AV03901	14,14±14,69	-2,21±21,88
AV03902	1,04±6,58	-8,89±7,03
AV03903	27,26±12,04	1,31±17,46
AV03904	-9,18±18,95	-26,31±18,14
AV03905	-5,65±2,70	-10,16±18,59
AV03906	-35,28±16,32	-8,37±15,50
AV03907	7,00±21,94	-15,68±15,05
AV03908	-14,93±13,27	-24,75±26,83
AV03909	7,39±21,17	-2,20±1,85
AV03910	-5,51±10,59	-13,41±16,87
AV03911	22,82±12,20	6,39±11,85
AV03912	-9,97±14,08	-19,91±18,47
AV03913	-8,38±13,93	-8,24±20,59
AV03914	-8,73±2,75	2,47±12,56

AV03915	-16,02±8,05	-12,61±13,45
AV03916	-0,10±6,80	8,08±9,70
AV03917	-5,16±8,95	-5,49±13,56
AV03918	-1,83±20,61	-3,63±5,72
AV03919	16,28±7,42	9,98±3,07
AV03920	-16,66±8,35	-15,16±6,44
AV03921	-13,44±10,57	-13,09±2,51
AV03922	-12,20±9,38	-21,91±1,68
AV03923	-5,13±15,47	-8,23±4,92
AV03924	-1,62±11,43	-14,70±9,35
AV03925	-0,04±11,17	-10,54±6,42
AV03926	-6,27±10,07	-6,53±10,43
AV03927	-28,75±16,80	-0,60±9,92
AV03928	-17,26±19,70	-23,23±5,41
AV03929	-30,56±10,76	-32,94±4,27
AV03930	-9,30±15,75	-23,02±5,35
AV03931	-17,05±9,45	-17,56±13,51
AV03932	-10,65±14,69	-17,33±9,01
AV03933	-12,32±3,68	-15,23±3,86
AV03934	-9,87±12,55	-12,24±6,08
AV03935	-6,52±11,89	-1,83±13,80
AV03936	-10,67±9,39	-4,45±1,84

AV03937	-3,47±8,69	-2,71±8,09
AV03938	9,35±0,69	13,38±6,36
AV03939	10,60±1,57	1,95±9,74
AV03940	8,15±5,69	0,46±4,82
AV03941	13,31±4,04	11,09±14,28
AV03942	14,49±6,14	4,53±4,09
AV03943	2,03±12,09	4,31±7,48
AV03944	5,26±10,82	-11,52±7,33
AV03945	-6,48±7,70	-8,88±18,01
AV03946	12,54±7,99	10,86±5,10
AV03947	4,14±7,07	9,48±2,92
AV03948	11,83±2,98	7,69±6,25
AV03949	14,18±9,47	6,04±5,25
AV03950	2,08±8,96	0,11±8,31
AV03951	2,87±9,23	0,50±4,71
AV03952	-18,99±7,76	-25,61±6,82
AV03953	-18,13±16,39	-21,16±7,60
AV03954	-14,59±9,06	-12,77±10,89
AV03955	-9,79±6,81	-4,39±12,29
AV03956	-0,88±2,73	-13,21±6,56
AV03957	-9,51±10,58	2,36±5,29
AV03958	-2,12±4,58	0,20±12,37

AV03959	4,69±4,41	7,78±4,07
AV03960	-11,83±9,00	-13,65±8,93
AV03961	-12,71±5,41	-16,80±4,42
AV03962	-7,22±0,87	-5,76±2,84
AV03963	-0,38±15,09	-16,96±10,06
AV03964	-7,36±8,95	-10,79±7,00
AV03965	-8,53±10,37	6,99±6,76
AV03966	-0,61±2,83	-1,34±7,06
AV03967	0,72±7,37	-5,51±1,05
AV03968	-28,35±14,71	-33,46±7,26
AV03969	-19,64±10,20	-14,59±10,51
AV03970	-11,62±5,70	-6,55±6,40
AV03971	-12,76±8,06	-5,91±4,86
AV03972	-4,89±2,01	-5,80±8,43
AV03973	-6,54±7,99	-6,31±8,08

La Tabla 6 proporciona resultados experimentales de estudios *in vitro* que utilizan diversos agentes de ARNi de la MAPT para inhibir la expresión de la MAPT. Las secuencias de cadena doble utilizadas corresponden a las que se muestran en la Tabla 2.

Cadena doble AV n.º	% de inhibición promedio (media ± SD)	
	5 nM	0,5 nM
AV03739	40,99±11,21	12,36±3,75
AV03740	17,49±7,73	12,26±7,82

AV03741	44,62±9,53	4,60±14,12
AV03743	19,72±3,35	-24,59±19,24
AV03746	56,78±10,86	10,17±8,60
AV03748	26,74±9,49	-11,95±6,79
AV03749	25,25±13,17	-7,44±13,40
AV03750	58,79±6,89	15,47±1,82
AV03752	56,50±3,58	20,16±13,39
AV03756	30,39±3,13	-10,78±11,66
AV03757	27,19±9,90	9,81±8,59
AV03758	21,49±2,76	-6,96±11,74
AV03759	30,70±4,21	-21,60±13,98
AV03760	21,24±10,91	4,08±20,63
AV03761	29,25±1,39	-1,98±18,24
AV03762	11,16±11,24	19,60±3,63
AV03763	4,11±12,88	2,25±7,53
AV03764	44,38±7,75	-2,37±5,82
AV03765	46,93±9,42	9,06±17,00
AV03766	21,68±2,43	5,46±6,75
AV03767	7,90±14,05	7,70±13,43
AV03768	62,80±9,36	17,52±7,26
AV03769	41,78±13,33	12,95±9,84
AV03770	54,04±2,06	12,97±18,56

AV03772	65,74±1,83	38,59±9,69
AV03773	42,54±5,45	-7,71±20,16
AV03774	50,90±3,85	11,28±13,45
AV03775	50,79±9,15	-6,88±10,65
AV03776	10,54±14,21	-1,55±19,87
AV03777	29,09±12,38	11,65±11,98
AV03778	4,45±5,66	9,35±13,18
AV03779	40,96±10,10	9,71±14,36
AV03780	-0,99±4,66	-6,74±11,45
AV03781	6,65±17,90	-0,56±10,98
AV03782	29,41±12,82	5,10±17,53
AV03783	3,67±11,73	-4,90±12,37
AV03784	43,44±6,25	1,47±16,97
AV03785	42,09±5,71	2,21±14,44
AV03786	59,23±6,10	2,04±4,27
AV03787	29,91±6,78	1,49±1,06
AV03788	12,83±6,63	1,77±16,67
AV03789	9,42±12,52	1,39±13,80
AV03790	26,38±8,73	1,77±8,52
AV03792	60,51±5,97	-4,46±13,00
AV03793	55,14±3,08	1,19±37,31
AV03794	44,91±9,89	-3,48±28,48

AV03795	58,78±5,15	12,99±14,28
AV03796	56,06±2,46	4,98±9,28
AV03797	64,67±9,43	23,43±2,11
AV03798	68,32±2,13	38,74±12,23
AV03799	49,14±3,65	10,50±14,35
AV03804	62,33±1,83	41,89±9,77
AV03805	51,78±6,70	-1,32±0,76
AV03806	47,39±9,04	2,58±10,19
AV03807	53,06±6,52	19,12±4,46
AV03811	10,78±12,30	-3,78±5,64

Ejemplo 6. Pruebas *in vivo* de cadenas dobles de ARNip de la MAPT

El día 1, se infectaron ratones hembra C57BL/6J (3 en cada grupo) por administración intravenosa de una solución del vector del virus adenoasociado 8 (AAV8) que codifica la MAPT humana (respectivamente fusionada a la secuencia diana de la MAPT que comprende los nucleótidos 148 a 3521 de la SEC ID N.º 1). El día 8, se administró a los ratones por vía subcutánea una única dosis de 5 mg/kg de agentes de ARNip de la MAPT o solución salina. Se recolectaron muestras de tejido hepático el día 15 para la cuantificación del nivel de ARNm de la MAPT utilizando un protocolo de QPCR. Los resultados se muestran en la Tabla 7. Todos los agentes de ARNi de la MAPT evaluados mostraron inhibición de la MAPT en ratones transducidos con la MAPT.

La Tabla 7 proporciona resultados experimentales de estudios *in vivo* que utilizan diversos agentes de ARNi de la MAPT para inhibir la expresión de la MAPT. Las secuencias de cadena doble utilizadas corresponden a las que se muestran en la Tabla 3.

ID del compuesto	MAPT-A restante en relación con el control (media ± SEM)	Dosis (mg/kg)
	D15	

AD01562	0,13±0,02	5,00
AD01562-1	0,09±0,01	5,00
AD01564	0,43±0,03	5,00
AD01565	0,2±0,03	5,00
AD01566	0,09±0,02	5,00
AD01567	0,11±0,01	5,00
AD01568	0,17±0,02	5,00
AD01569	0,3±0,17	5,00
AD01570	0,51±0,12	5,00
AD01571	0,19±0,02	5,00
AD01572	0,13±0,04	5,00
AD01573	0,1±0,05	5,00
AD01574	0,34±0,06	5,00
AD01575	0,27±0,02	5,00
AD01576	0,15±0,03	5,00
AD01577	0,73±0,11	5,00
AD01578	0,56±0,11	5,00
AD01579	0,35±0,08	5,00
AD02147	0,33±0,1	5,00
AD02148	0,08±0,04	5,00
AD02149	0,11±0,04	5,00
AD02150	0,13±0,01	5,00

AD02151	0,12±0,05	5,00
AD02152	0,23±0,07	5,00
AD02153	0,11±0,03	5,00
AD02154	0,22±0,1	5,00
AD02155	0,33±0,01	5,00
AD02156	0,44±0,13	5,00
AD02157	0,32±0,09	5,00
AD02158	0,15±0,02	5,00
AD02159	0,51±0,04	5,00
AD02160	0,56±0,04	5,00
AD02161	0,54±0,12	5,00
AD02162	0,21±0,1	5,00
AD02163	0,25±0,11	5,00
AD02164	0,2±0,06	5,00
AD02165	0,41±0,16	5,00
AD02166	0,5±0,19	5,00
AD02167	0,29±0,13	5,00
AD02168	0,17±0,02	5,00
AD02169	0,25±0,03	5,00
AD02170	0,22±0,08	5,00
AD02171	0,3±0,09	5,00
AD02172	0,27±0,04	5,00

AD02173	0,14±0,11	5,00
AD02174	0,47±0,02	5,00
AD02175	0,39±0,02	5,00
AD02176	0,54±0,09	5,00
AD02177	0,56±0,15	5,00

Ejemplo 7. Pruebas *in vivo* de cadenas dobles de ARNip de la MAPT

El día 1, se infectaron ratones hembra C57BL/6J (3 en cada grupo) por administración intravenosa de una solución del vector del virus adenoasociado 8 (AAV8) que codifica la MAPT humana (respectivamente fusionada a la secuencia diana de la MAPT que comprende los nucleótidos 148 a 3521 de la SEC ID N.º 1). El día 8, se administró a los ratones por vía subcutánea una única dosis de 2 mg/kg de agentes de ARNip de la MAPT o solución salina. Se recolectaron muestras de tejido hepático el día 15 para la cuantificación del nivel de ARNm de la MAPT utilizando un protocolo de QPCR. Los resultados se muestran en las Tablas 8 a 9.

10 Todos los agentes de ARNi de la MAPT evaluados mostraron inhibición de la MAPT en ratones transducidos con la MAPT.

La Tabla 8 proporciona resultados experimentales de estudios *in vivo* que utilizan diversos agentes de ARNi de la MAPT para inhibir la expresión de la MAPT. Las secuencias de cadena doble utilizadas corresponden a las que se muestran en la Tabla 3.

ID del compuesto	MAPT-A restante en relación con el control (media ± SEM)	Dosis (mg/kg)
	D15	
Solución salina	1±0,03	/
AD01562	0,37±0,04	2,00
AD01562-1	0,15±0,02	2,00
AD01566	0,3±0,12	2,00
AD01567	0,22±0,02	2,00

AD01568	0,36±0,04	2,00
AD01571	0,28±0,04	2,00
AD01572	0,21±0,06	2,00
AD01573	0,28±0,06	2,00
AD01576	0,25±0,01	2,00
AD02148	0,16±0,03	2,00
AD02149	0,2±0,02	2,00
AD02150	0,19±0,01	2,00
AD02151	0,19±0,02	2,00
AD02153	0,2±0,02	2,00
AD02158	0,24±0,03	2,00
AD02168	0,25±0,03	2,00
AD02173	0,74±0,03	2,00

La Tabla 9 proporciona resultados experimentales de estudios *in vivo* que utilizan diversos agentes de ARNi de la MAPT para inhibir la expresión de la MAPT. Las secuencias de cadena doble utilizadas corresponden a las que se muestran en la Tabla 3.

ID del compuesto	MAPT-A restante en relación con el control (media ± SEM)	Dosis (mg/kg)
	D15	
AD01562-1	0,17±0,04	2,00
AD02754	0,34±0,01	2,00
AD02755	1,25±0,39	2,00
AD02756	0,59±0,07	2,00

AD02757	0,16±0,03	2,00
AD02758	0,2±0,12	2,00
AD02759	0,21±0,07	2,00
AD02760	0,5±0,11	2,00
AD02761	0,38±0,13	2,00
AD02762	0,36±0,1	2,00
AD02763	0,42±0,08	2,00
AD02764	0,17±0,09	2,00
AD02765	0,45±0,08	2,00
AD02766	0,37±0,03	2,00
AD02767	0,43±0,22	2,00
AD02768	0,63±0,02	2,00
AD02769	0,71±0,08	2,00
AD02770	0,46±0,07	2,00
AD02771	1,15±0,23	2,00
AD02772	0,79±0,18	2,00
AD02773	0,66±0,16	2,00
AD02774	0,32±0,05	2,00
AD02775	0,49±0,02	2,00
AD02776	1,19±0,57	2,00
AD02777	0,51±0,16	2,00
AD02778	0,5±0,02	2,00

AD02779	0,95±0,02	2,00
AD02780	0,52±0,06	2,00
AD02781	0,44±0,07	2,00
AD02782	0,24±0,03	2,00
AD02783	0,22±0,07	2,00
AD02784	0,02±0,01	2,00

Ejemplo 8. Detección *in vitro* de cadenas dobles de ARNip de la MAPT

Las células Huh7 se tripsinizaron y se ajustaron a la densidad adecuada antes de sembrarlas en placas de 96 pocillos. Las células se transfectaron con los complejos del plásmido del vector psiCHECK(TM)-2, el vector en blanco PCNDA3.0, ARNip o un ARNip de control utilizando Lipofectamine 2000 (Invitrogen-11668-019) al día siguiente de la siembra, siguiendo el protocolo según las recomendaciones del fabricante. Los ARNip se evaluaron en diferentes concentraciones (0,5 nM y 5 nM) por triplicado.

Día 1: agregar tripsina para disociar las células Huh7 en un matraz y contabilizar las células con el contador celular Vi-Cell, ajustar la densidad celular a 1×10^5 /ml y cultivar en medio DMEM.

- 10 Día 2: transfección de la mezcla vector de MAPT-psiCHECK(TM)-2/vector en blanco pCDNA3.0/ARNip/Lipofectamina 2000

(1) Mezclar bien Lipofectamine 2000 (Invitrogen-11668-019) con el medio Opti-MEM® (mezcla de solución n.º 1). Volumen final igual a 0,3 µl de Lipofectamine 2000 y 4,7 µl de medio Opti-MEM® por pocillo.

- 15 (2) Mezclar correctamente el vector MAPT-psiCHECK(TM)-2 apropiado, el vector en blanco pCNDNA 3.0 y los ARNip con el medio Opti-MEM® por pocillo (mezcla de solución n.º 2).

(3) Mezclar volúmenes iguales de la solución mezcla n.º 1 y mezcla n.º 2 hasta obtener 10 µl finales por pocillo. Incubar la mezcla a temperatura ambiente durante 15 min para permitir la formación del complejo.

- 20 (4) Retirar el medio DMEM, agregar 10 µl de solución mixta de la mezcla n.º 1 y la mezcla n.º 2 y 90 µl de medio DMEM recién preparado.

(5) No se definió ningún pocillo de control de compuesto como células transfectadas con el vector MAPT-psiCHECK(TM)-2 y el vector en blanco pCNDNA 3.0 y sin tratamiento con

ARNip; el control en blanco fueron los pocillos que solo contenían células.

Día 3, ensayo de luciferasa Dual-Glo

- (1) Agregue el reactivo de detección de luciferasa de Renilla que esté equilibrado a temperatura ambiente y el volumen de muestra sea el mismo que el del medio de cultivo celular inicial y esté completamente mezclado. Por ejemplo, para una placa de 96 pocillos, se recomienda agregar 80 ul de medio de cultivo y 80 ul de reactivos de detección según corresponda.
- (2) Mezclar a temperatura ambiente en un agitador horizontal durante al menos 10 minutos.
- (3) Detectar la señal de luminiscencia de la luciferasa Renilla en un detector de quimioluminiscencia o un lector de microplacas multifuncional con un módulo de quimioluminiscencia y completar la detección dentro de las 2 horas posteriores a la adición del reactivo de detección. La secuencia de detección de la luciferasa Renilla en la placa de microtitulación debe ser la misma que la de la luciferasa Firefly.

Análisis de datos

- 15 Diseño experimental: según los diferentes propósitos experimentales, se debe establecer un grupo de control en blanco, un grupo experimental y un grupo de control en cada placa de cultivo.

a. Grupos de control en blanco

Fondo F: células no transfectadas + reactivo de detección de luciferasa Firefly.

- 20 Fondo R: células no transfectadas + reactivo de detección de luciferasa Firefly + reactivo de detección de luciferasa Renilla

Nota: la cantidad de muestra utilizada en el grupo de control en blanco debe ser la misma que la de la muestra experimental y contener la misma combinación de medio/suero que la muestra experimental.

- 25 b. Grupo experimental: las células transfectadas se tratan con compuestos experimentales (es decir, grupo experimental F y grupo experimental R).

c. Grupo de control: las células transfectadas no se tratan para estandarizar los resultados (es decir, grupo control F y grupo control R).

Resultado del cálculo:

- 30 La relación del grupo experimental = (grupo experimental F-fondo F)/(grupo experimental R-fondo R), la relación del grupo de control = (grupo control F-fondo F)/(grupo control R-fondo R).

Expresión múltiple = relación del grupo experimental/relación del grupo control.

Las secuencias de cadena doble utilizadas corresponden a las que se muestran en las Tablas 10 a 11.

La Tabla 10 proporciona resultados experimentales de estudios *in vitro* que utilizan diversos agentes de ARNi de la MAPT para inhibir la expresión de la MAPT. Las secuencias de cadena doble utilizadas corresponden a las que se muestran en la Tabla 2.

Cadena doble AV n.º	% de inhibición	
	5 nM	0,5 nM
	Media $\pm$ SD	
AV07298	-11,50 $\pm$ 0,82	-11,09 $\pm$ 10,62
AV07299	-16,79 $\pm$ 5,81	-16,57 $\pm$ 6,26
AV07300	3,29 $\pm$ 3,31	12,99 $\pm$ 1,50
AV07301	-4,42 $\pm$ 1,44	-9,18 $\pm$ 7,31
AV07302	25,68 $\pm$ 0,93	5,72 $\pm$ 6,08
AV07303	4,14 $\pm$ 7,15	-8,51 $\pm$ 1,93
AV07304	33,93 $\pm$ 1,60	26,51 $\pm$ 3,28
AV07306	40,08 $\pm$ 3,34	33,69 $\pm$ 1,87
AV07307	47,84 $\pm$ 4,38	70,36 $\pm$ 0,55
AV07308	25,00 $\pm$ 3,65	35,10 $\pm$ 2,91
AV07309	39,49 $\pm$ 2,29	34,35 $\pm$ 3,06
AV07310	38,87 $\pm$ 4,18	29,95 $\pm$ 3,70
AV07311	71,40 $\pm$ 1,00	60,41 $\pm$ 2,95
AV07312	49,34 $\pm$ 2,57	33,52 $\pm$ 4,57
AV07314	55,73 $\pm$ 1,09	29,38 $\pm$ 5,07

AV07315	37,19±1,77	32,77±0,12
AV07316	17,63±2,41	19,82±9,16
AV07317	11,92±7,11	-6,29±5,63
AV07318	63,03±0,40	56,37±3,61
AV07319	46,64±2,46	4,90±11,20
AV07320	3,57±7,16	3,04±8,75
AV07322	74,50±1,12	68,18±1,85
AV07323	31,90±4,41	21,62±5,49
AV07324	31,08±2,45	37,85±2,10
AV07325	41,45±4,19	19,37±0,18
AV07326	-16,60±8,34	-15,00±9,39
AV07327	-4,74±3,29	-14,56±11,71
AV07328	13,24±6,76	6,87±6,72
AV07330	-8,43±6,15	-9,20±7,81
AV07331	56,20±2,03	44,28±2,97
AV07332	-12,09±2,33	-12,14±2,37
AV07333	-10,46±0,96	-4,54±4,72
AV07334	-8,32±3,73	-3,92±13,67
AV07335	-3,34±4,63	-13,54±6,12
AV07336	5,88±5,01	19,74±1,09
AV07338	66,10±0,45	62,68±1,38
AV07339	66,47±2,75	44,63±2,15

AV07340	73,25±2,02	68,93±4,08
AV07341	77,09±0,97	74,85±2,12
AV07342	16,00±4,99	-6,51±0,81
AV07343	57,53±3,51	29,58±2,78
AV07344	12,57±2,57	11,97±7,04
AV07346	37,00±5,22	26,98±5,70
AV07347	-9,59±3,03	-7,60±5,62
AV07348	53,95±1,22	32,42±3,81
AV07349	25,00±4,51	11,22±2,05
AV07350	3,79±4,89	-4,89±6,16
AV07351	11,35±3,65	19,06±3,97
AV07352	36,47±4,20	30,42±1,21
AV07354	60,71±2,78	50,83±1,96
AV07355	17,44±5,90	-3,31±5,50
AV07356	48,76±3,24	54,35±0,41
AV07357	46,47±3,78	23,27±2,82
AV07358	45,66±1,33	32,97±0,56
AV07359	39,52±2,37	18,32±3,66
AV07360	35,85±6,65	18,02±5,14
AV07362	32,70±1,34	22,27±5,25
AV07363	72,58±1,97	53,43±1,68
AV07364	-4,69±6,96	-1,85±6,51

AV07365	-2,05±3,71	0,11±12,16
AV07366	7,25±3,82	6,79±6,49
AV07367	8,54±6,55	-5,90±3,69
AV07368	11,09±2,12	16,74±12,80
AV07370	45,28±3,98	45,14±3,25
AV07371	72,29±2,08	64,50±2,70
AV07372	69,73±1,79	72,31±0,53
AV07373	55,74±0,50	52,62±1,17
AV07374	55,03±5,48	46,40±2,44
AV07375	80,21±1,10	74,86±1,48
AV07376	47,96±3,54	44,78±2,27
AV07378	39,52±5,48	16,61±5,24
AV07379	72,12±1,42	74,01±1,62
AV07380	-9,33±9,05	-6,11±4,06
AV07381	9,37±5,32	15,64±6,10
AV07382	28,63±2,92	20,10±0,19
AV07383	48,26±4,69	19,91±1,81
AV07384	55,79±1,71	45,27±3,38
AV07386	0,90±8,78	0,43±7,52
AV07387	-12,46±2,80	-9,71±3,73
AV07388	55,74±4,92	51,50±3,13
AV07389	76,79±0,69	76,73±0,94

AV07390	38,37±2,77	35,94±4,39
AV07391	19,87±0,74	16,65±4,56
AV07392	44,86±2,00	19,75±2,97
AV07305	14,38±3,12	14,29±5,66
AV07313	48,89±2,03	27,27±1,02
AV07321	23,77±2,44	4,15±4,21
AV07329	18,23±0,50	10,93±1,69
AV07337	69,33±0,88	53,70±5,15
AV07345	66,25±2,24	59,08±3,66
AV07353	56,01±10,60	51,80±0,57
AV07361	7,01±2,61	-11,90±4,80
AV07369	-1,05±1,09	-10,86±4,47
AV07377	40,89±2,69	26,03±2,12
AV07385	31,03±4,43	26,41±5,49
AV07393	28,67±4,47	19,39±6,39

La Tabla 11 proporciona resultados experimentales de estudios *in vitro* que utilizan diversos agentes de ARNi de la MAPT para inhibir la expresión de la MAPT. Las secuencias de cadena doble utilizadas corresponden a las que se muestran en la Tabla 2.

Cadena doble AV n.º	% de inhibición	
	5 nM	0,5 nM
	Media ± SD	
AV07394	12,02±10,17	1,14±10,04
AV07395	36,55±5,32	14,64±1,56

AV07396	1,11±9,52	4,01±6,54
AV07397	-10,63±7,01	-2,77±8,65
AV07398	-4,94±4,18	7,87±3,18
AV07399	6,28±2,76	17,15±3,61
AV07400	-1,88±9,97	0,52±5,95
AV07402	-6,47±2,65	-14,32±2,01
AV07403	-17,11±5,51	-17,46±5,32
AV07404	30,78±2,87	17,43±7,99
AV07405	60,23±2,63	39,27±3,22
AV07406	71,01±1,94	66,87±2,67
AV07407	76,23±1,05	70,18±1,98
AV07408	69,41±1,37	59,87±1,15
AV07410	60,71±3,29	26,74±3,36
AV07411	55,26±2,36	64,38±1,69
AV07412	29,59±4,31	40,28±0,44
AV07413	52,89±3,72	70,54±2,93
AV07414	70,84±1,52	69,62±1,91
AV07415	50,07±1,59	59,75±0,99
AV07416	21,64±6,77	21,54±6,72
AV07418	64,26±2,84	56,52±4,73
AV07419	62,43±0,94	45,53±2,87
AV07420	63,56±2,08	36,56±3,87

AV07421	75,70±1,06	62,24±2,62
AV07422	37,56±3,82	40,03±4,00
AV07423	12,40±4,32	3,23±3,39
AV07424	-8,08±2,84	-2,43±4,48
AV07426	-13,81±6,40	-9,61±13,34
AV07427	41,25±5,95	10,44±3,14
AV07428	63,03±4,32	50,54±4,26
AV07429	23,54±8,44	29,88±2,45
AV07430	-0,02±6,15	-1,03±2,75
AV07431	-0,06±3,39	12,23±0,79
AV07432	33,36±3,06	52,89±2,16
AV07434	-24,10±9,67	-18,82±5,35
AV07435	-15,57±9,09	-8,59±9,91
AV07436	-15,51±2,38	-6,55±6,71
AV07437	14,95±6,24	2,42±6,77
AV07438	3,29±2,28	-2,43±5,47
AV07439	12,50±4,18	9,56±3,34
AV07440	-7,37±1,49	-11,36±8,28
AV07401	3,47±4,65	-8,42±0,99
AV07409	-0,83±3,61	-7,91±8,11
AV07417	55,95±6,46	47,04±2,51
AV07425	45,74±4,05	28,82±4,66

AV07433	-1,98±8,75	14,47±3,20
AV07441	-10,50±0,94	-11,49±7,00
AV07442	-5,76±1,63	-6,18±7,10

Ejemplo 9. Pruebas *in vivo* de cadenas dobles de ARNip de la MAPT

El día 1, se infectaron ratones hembra C57BL/6J (3 en cada grupo) por administración intravenosa de una solución del vector del virus adenoasociado 8 (AAV8) que codifica la MAPT humana (respectivamente fusionada a la secuencia diana de la MAPT que comprende los nucleótidos 148 a 3521 de la SEC ID N.º 1). El día 12, se administró a los ratones por vía subcutánea una única dosis de 2 mg/kg de agentes de ARNip de la MAPT o solución salina. Se recolectaron muestras de tejido hepático el día 19 para la cuantificación del nivel de ARNm de la MAPT utilizando un protocolo de QPCR. Los resultados se muestran en la Tabla 12. Todos los agentes de ARNi de la MAPT evaluados mostraron inhibición de la MAPT en ratones transducidos con la MAPT.

La Tabla 12 proporciona resultados experimentales de estudios *in vivo* que utilizan diversos agentes de ARNi de la MAPT para inhibir la expresión de la MAPT. Las secuencias de cadena doble utilizadas corresponden a las que se muestran en la Tabla 3.

Cadena doble AD n.º	MAPT restante en relación con el control (media ± SEM)	Dosis (mg/kg)
	D19	
Solución salina	1,07±0,26	/
AD01562-1	0,18±0,05	2
AD03098-1	0,16±0,05	2
AD03099-1	0,12±0,05	2
AD03100	0,15±0,09	2
AD02148-1	0,18±0,08	2
AD02757-1	0,31±0,13	2

AD02149-1	0,06±0,02	2
AD02758-1	0,39±0,13	2
AD02759-1	0,09±0,04	2
AD01567-1	0,09±0,02	2
AD02150-1	0,13±0,07	2
AD02764-1	0,3±0,05	2
AD02767-1	0,1±0,01	2
AD02151-1	0,15±0,01	2
AD01572-1	0,24±0,07	2
AD02153-1	0,1±0,06	2
AD02173-1	0,39±0,08	2
AD02782-1	0,22±0,06	2
AD02783-1	0,18±0,03	2
AD02148-2	0,08±0,04	2
AD02757-2	0,35±0,07	2
AD02149-2	0,21±0,12	2
AD02758-2	0,3±0,14	2
AD02759-2	0,15±0,05	2
AD01567-2	0,32±0,11	2
AD02150-2	0,17±0,03	2
AD02764-2	0,35±0,13	2
AD02767-2	0,11±0,02	2

AD02151-2	0,19±0,08	2
AD01572-2	0,21±0,02	2
AD02153-2	0,14±0,02	2
AD02173-2	0,38±0,11	2
AD02782-2	0,47±0,17	2
AD02148-3	0,14±0,02	2
AD02757-3	0,18±0,01	2
AD02149-3	0,1±0,02	2
AD02758-3	0,32±0,04	2
AD02759-3	0,12±0,03	2
AD01567-3	0,11±0,04	2
AD02150-3	0,12±0,03	2
AD02764-3	0,17±0,05	2
AD02767-3	0,05±0,01	2
AD02151-3	0,18±0,04	2
AD01572-3	0,09±0,02	2
AD02153-3	0,09±0,02	2
AD02782-3	0,25±0,01	2

Equivalentes

Aunque se han descrito e ilustrado varias realizaciones de la presente invención en el presente documento, los expertos en la técnica concebirán fácilmente una variedad de otros medios y/o estructuras para realizar las funciones y/u obtener los resultados y/o una o más de las ventajas descritas en el presente, y cada una de dichas variaciones y/o modificaciones se considera dentro del alcance de la presente invención. De manera más general, los expertos en la técnica

apreciarán fácilmente que todos los parámetros, dimensiones, materiales y configuraciones descritos en el presente documento pretenden ser ilustrativos y que los parámetros, dimensiones, materiales y/o configuraciones reales dependerán de la aplicación o las aplicaciones específicas para las que se utilizan los descubrimientos de la presente invención. Los expertos en la técnica reconocerán, o podrán determinar utilizando solo los experimentos de rutina, muchos equivalentes de las realizaciones específicas de la invención descrita en el presente documento. Por lo tanto, debe entenderse que las realizaciones anteriores se presentan solo a modo de ejemplo y que, dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes, la invención puede ponerse en práctica de otra manera que no sea la específicamente descrita y reivindicada. La presente invención se refiere a cada característica, sistema, artículo, material y/o método individual descrito en el presente documento. Además, se incluye dentro del alcance de la presente invención cualquier combinación de dos o más de dichas características, sistemas, artículos, materiales y/o métodos, si dichas características, sistemas, artículos, materiales y/o métodos no son mutuamente incoherentes.

Se debe entender que todas las definiciones, tal como se definen y utilizan en el presente documento, prevalecen sobre las definiciones del diccionario, las definiciones en los documentos incorporados por referencia y/o los significados ordinarios de los términos definidos.

Debe entenderse que los artículos indefinidos “un” y “una”, como se usan en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones, a menos que se indique claramente lo contrario, significan “al menos uno”.

Debe entenderse que la frase “y/o”, como se usa en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones, significa “uno o ambos” de los elementos así unidos, es decir, elementos que están presentes conjuntivamente en algunos casos y presentes disyuntivamente en otros casos. Opcionalmente, pueden estar presentes otros elementos distintos de los elementos específicamente identificados por la cláusula “y/o”, ya sean relacionados o no con los elementos específicamente identificados, a menos que se indique claramente lo contrario.

Todas las referencias, patentes, y solicitudes y publicaciones de patentes que se citan o a las que se hace referencia en esta solicitud se incorporan al presente documento por referencia en su totalidad.