

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 399 371**

51 Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)

A61K 31/7088 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2008 E 08749943 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2012 EP 2152879**

54 Título: **Compuestos antagonistas de RNA para la modulación de beta-catenina**

30 Prioridad:

01.05.2007 US 915371 P
24.01.2008 US 23244

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.03.2013

73 Titular/es:

SANTARIS PHARMA A/S (100.0%)
Fremtidsvej 3
2970 Hørsholm, DK

72 Inventor/es:

WORM, JESPER

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 399 371 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos antagonistas de RNA para la modulación de beta-catenina.

5 CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a compuestos oligoméricos (oligómeros), que están direccionados a mRNA de beta-catenina en una célula, conduciendo a expresión reducida de beta-catenina. La reducción de la expresión de beta-catenina es beneficiosa para una serie de trastornos médicos, tales como enfermedades hiperproliferativas, con inclusión del
10 cáncer. La invención proporciona composiciones terapéuticas que comprenden oligómeros y métodos para modulación de la expresión de beta-catenina que utilizan dichos oligómeros, con inclusión de métodos de tratamiento.

15 ANTECEDENTES

La beta-catenina (conocida también como proteína asociada a cadherina y β -catenina) es un miembro de la familia de proteínas citosólicas cateninas y un elemento fundamental en el camino de señalización iniciado por las proteínas Wnt, mediadores de varios procesos del desarrollo. La beta-catenina sufre fosforilación después de estimulación por factores de crecimiento, dando como resultado adhesión celular reducida.

Se ha demostrado que el papel de la beta-catenina en el desarrollo del cáncer está regulado por el producto de expresión del gen APC (poliposis adenomatosa del colon). La proteína supresora de tumores APC se fija a beta-catenina, mientras que se demostró que la beta-catenina interacciona con factores de transcripción Tcf y Lef. Morin
20 *et al.* informan que la proteína APC regula en sentido decreciente la activación de la transcripción mediada por beta-catenina y Tcf-4 en el cáncer de colon. Sus resultados indican que la regulación de beta-catenina es crítica para el efecto supresor de tumores de APC y que esta regulación puede soslayarse por mutaciones en APC o beta-catenina. Varios estudios informan acerca de la detección de mutaciones en beta-catenina en diversas líneas de células de cáncer y se han encontrado cantidades anormalmente altas de beta-catenina en líneas de células de melanoma.

Morin *et al.* demostraron que las mutaciones de beta-catenina que afectan a sitios de fosforilación hacían las células insensibles a la regulación decreciente de beta-catenina mediada por APC y que este mecanismo interrumpido era crítico para la tumorigénesis colorrectal (Morin *et al.*, Science, 1997, 275-1787-1790).

35 La Patente U.S. No. 6.066.500 otorgada a Bennett et al. describe compuestos antisentido, composiciones y métodos para modulación de la expresión de beta-catenina.

WO 01/00872 da a conocer compuestos antisentido para modulación de la expresión de beta-catenina.

40 Veeramachanemi et al. (J Thorac and Cardiovas Surg, 2004, 127:92-8) sugieren que la regulación decreciente de beta-catenina podría inhibir el crecimiento del cáncer de esófago humano.

Roh et al. (Cancer Research, 2001, 61:6563-6568) dan a conocer el uso de oligonucleótidos antisentido que regulan en sentido decreciente la expresión de β -catenina en células de carcinoma de colon humano que contienen
45 mutantes de APC.

Canter et al (Annals of Surgical Oncology, 2005, 12(9): 733-742) dan a conocer el uso de oligodesoxinucleótidos antisentido para determinar si los mismos dan como resultado una regulación decreciente de β -catenina y si esto mejora la respuesta tumoral a la perfusión de miembros aislados en un modelo heterotrópico de CRC humano.

50 Green et al (J of Surgical Research, 2001, 101:16-20) informan que el tratamiento de xenoinjertos de carcinoma colorrectal con mutantes APC con β -catenina antisentido daba como resultado una regulación decreciente dependiente de la dosis de la expresión de la proteína β -catenina como se demostraba por transferencia Western.

55 Emanuele et al (European J of Cancer, 2004, 40:1441-1452) dan a conocer que en células HuH-6, el pretratamiento con ODN de β -catenina antisentido reducía el contenido de β -catenina y anticipaba el comienzo de la apoptosis a las 8 horas de exposición a butirato.

60 Li et al (Proceedings of the American Association for Cancer Research, 2005, 46:137) dan a conocer un estudio en el cual se desarrollan oligonucleótidos antisentido contra β -catenina como agentes anticáncer.

WO 03/031937 da a conocer marcadores polimórficos identificadores para resistencia a herbicidas en malezas.

WO 04/045543 da a conocer la silenciación de genes específicos de secuencia mediante el uso de tecnología de siRNA.

5 Considerando la indicación de la β -catenina en el desarrollo del cáncer, persiste la necesidad de agentes capaces de inhibir eficazmente la función de la β -catenina.

SUMARIO DE LA INVENCION

10 La invención proporciona un oligómero de entre 10 y 50 nucleobases de longitud que comprende una secuencia de nucleobases contiguas de un total comprendido entre 10 y 50 nucleobases, en donde dicha secuencia de nucleobases contiguas es al menos homóloga en un 80% a una región correspondiente de un ácido nucleico que codifica una β -catenina de mamífero.

15 La invención proporciona un oligómero de entre 10 y 50 nucleobases de longitud que comprende una secuencia de nucleobases contiguas con un total comprendido entre 10 y 50 nucleobases, en donde dicha secuencia de nucleobases contiguas es homóloga al menos en un 80% a una región correspondiente de una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NO 173 y SEQ ID NOs 174-193.

20 La invención proporciona oligómeros que tienen entre 10 y 50 nucleobases de longitud, que comprende una secuencia de nucleobases contiguas con un total comprendido entre 10 y 50 nucleobases, en donde dicha secuencia de nucleobases contiguas es homóloga al menos en un 80% a una región correspondiente de una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NO 1-192.

25 La invención proporciona además un conjugado que comprende el oligómero de acuerdo con la invención, tal como un conjugado que, además de la secuencia de nucleobases del oligómero comprende al menos un resto no nucleotídico (es decir no constituido por nucleobases) o no polinucleotídico unido covalentemente al oligómero de la invención. El resto no nucleotídico o no polinucleotídico puede estar constituido por o comprender un grupo esterol tal como colesterol, u otro resto que facilite la entrada en la célula.

30 La invención proporciona un conjugado que comprende el oligómero de acuerdo con la invención, tal como un conjugado que, además de la secuencia de nucleobases del oligómero, comprende un conjugado polímero que contiene restos cargados positivamente, tales como polietilenglicol (PEG) - es decir, el oligómero de acuerdo con la invención puede, opcionalmente, estar pegilado.

35 La invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el oligómero o el conjugado de la invención como se ha definido, y un diluyente, portador, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

La invención proporciona además un oligómero de acuerdo con la invención, para uso en medicina.

40 La invención proporciona además el uso del oligómero de la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una o más de las enfermedades a que se hace referencia en esta memoria, tales como una enfermedad seleccionada de: enfermedades hiperproliferativas tales como aquéllas a las que se hace referencia en esta memoria, tales como el cáncer.

45 La invención proporciona además un oligómero de acuerdo con la invención, para uso en el tratamiento de una o más de las enfermedades a que se hace referencia en esta memoria, tales como el cáncer.

50 Se proporcionan también composiciones farmacéuticas y otras composiciones que comprenden el oligómero o conjugado de la invención. Se proporcionan adicionalmente métodos de regulación en sentido decreciente de la expresión de beta-catenina en células o tejidos que comprenden poner en contacto dichas células o tejidos, *in vitro* o *in vivo*, con uno o más de los oligómeros, conjugados o composiciones de la invención.

55 Se dan a conocer también métodos de tratamiento de un animal o un humano, sospechoso de padecer o ser propenso a padecer una enfermedad o afección, asociada con la expresión, o sobre-expresión, de beta-catenina, por administración a dicho animal o humano de una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de uno o más de los oligómeros, conjugados o composiciones de la invención.

60 Se proporcionan adicionalmente métodos de utilización de los oligómeros para la inhibición de la expresión de beta-catenina, y para el tratamiento de enfermedades asociadas con la actividad de beta-catenina.

La invención proporciona un método para tratamiento de una enfermedad o trastorno, tal como los mencionados en esta memoria, tal como una enfermedad hiperproliferativa tal como cáncer, comprendiendo dicho método administrar un oligómero, un conjugado, o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención a un paciente que se encuentra en necesidad de ello.

5 La invención proporciona un método de inhibición o reducción de la expresión de beta-catenina en una célula o un tejido, comprendiendo el método el paso de poner en contacto dicha célula o tejido con un oligómero, un conjugado, o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención de tal modo que la expresión de beta-catenina se inhibe o se reduce.

10 La invención proporciona un método de desencadenamiento de apoptosis en una célula, tal como una célula de cáncer, comprendiendo dicho método el paso de poner en contacto dicha célula o tejido con un oligómero, un conjugado, o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención de tal modo que la expresión de beta-catenina se inhibe o se reduce y/o se desencadena la apoptosis.

15 La invención proporciona además un oligómero que comprende o consiste en una secuencia de nucleobases contiguas que es homóloga al menos en un 80% a una región que corresponde a una secuencia seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NOs 1-132 y SEQ ID NOs 174-193, tal como una secuencia seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NO 189, 192, 58 y 103.

20 La invención proporciona además un oligómero que comprende o consiste en una secuencia de nucleobases contiguas que corresponde a una secuencia equivalente presente en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO 174-193, tal como SEQ ID NO 189 ó 192.

La invención proporciona además un oligómero que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NO 133-174, tal como SEQ ID NO 168 ó 171, que comprende o consiste en una secuencia de nucleobases contiguas que corresponde a dicha secuencia.

25 CASOS AFINES

Las solicitudes afines siguientes se mencionan en esta memoria: US 60/915371 y US 61/023244.

30 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Las secuencias diana de β -catenina que corresponden a las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NOS: 1, 16, 17, 18, 33, 34, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 73, 88, 103 y 118, respectivamente, se muestran en negrita y subrayadas, indicando su posición en el transcrito de β -catenina (número de Acceso a GenBank NM_001904 - SEQ ID NO: 173).

Figura 2: Expresión de β -catenina normalizada para GAPDH 24 horas después de la transfección de células SW480.

Figura 3: Contenido de proteína β -catenina en las células SW480 transfectadas con oligonucleótidos a concentración 1 y 5 nM medida por transferencia Western. Se utilizó tinción de tubulina como control de carga y se utilizó SEQ ID NO: 194 como oligonucleótido de control enmarañado.

Figura 4: Proliferación celular medida utilizando el ensayo MTS en células HCT116 transfectadas con oligonucleótidos a concentración 25 nM medida como OD490 en momentos diferentes después de la transfección. Se utilizaron como controles células falsamente transfectadas y células transfectadas con SEQ ID NO: 194 (control enmarañado).

Figura 5: Expresión de mRNA de β -catenina relativa al control tratado con solución salina en hígado de ratón medida por QPCR después de tratamiento con 3 x 25 mg/kg oligonucleótido i.v. La expresión de β -catenina se normalizó para GAPDH y los resultados se representaron con relación al control tratado con solución salina.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

55 *El oligómero*

60 La presente invención emplea compuestos oligoméricos (a los que se hace referencia en esta memoria como oligómeros), para uso en la modulación de la función de moléculas de ácido nucleico que codifican β -catenina de mamífero, tales como el ácido nucleico de β -catenina representado en SEQ ID NO 173, y variantes alélicas existentes naturalmente de tales moléculas de ácido nucleico que codifican β -catenina de mamífero.

En el contexto de la presente invención, el término "oligómero" se refiere a una molécula formada por enlace covalente de dos o más nucleobases (es decir un oligonucleótido). En esta memoria, puede hacerse referencia a cada nucleobase simple como un monómero o unidad. El oligómero consiste en o comprende una secuencia de

nucleobases contiguas que tiene una longitud comprendida entre 10 y 50 nucleobases. Un oligómero puede comprender unidades nucleotídicas naturales, v.g. ácido ribonucleico (**RNA**) o ácido desoxirribonucleico (**DNA**), o análogos de ácido nucleico, o mixturas de las mismas, como las que se mencionan en esta memoria, que incluyen preferiblemente Ácido Nucleico Bloqueado (LNA). Por tanto, incluye oligómeros compuestos de nucleobases existentes naturalmente, azúcares y enlaces internucleobase así como oligómeros que tienen nucleobases no existentes naturalmente que funcionan análogamente o con funciones específicas mejoradas. Oligómeros total o parcialmente modificados o sustituidos se prefieren a menudo a las formas nativas debido a varias propiedades deseables de tales oligómeros, tales como la capacidad de atravesar una membrana celular, resistencia satisfactoria a las nucleasas extra- y/o intracelulares y afinidad y especificidad altas para la diana de ácido nucleico. El análogo LNA es particularmente preferido, por ejemplo, considerando las propiedades arriba mencionadas. Por consiguiente, en una realización altamente preferible un oligómero de acuerdo con la invención está constituido tanto por unidades nucleotídicas como unidades análogas a nucleótidos, tales como unidades de LNA, o por agrupaciones diferentes de unidades análogas de nucleótidos, para formar un oligonucleótido que contiene entre 10 y 50, preferiblemente entre 10 y 25 nucleobases, más preferiblemente entre 10 y 16 nucleobases, y todavía más preferiblemente entre 12 y 16 nucleobases.

En diversas realizaciones, el oligómero de la invención no comprende RNA (unidades). Se prefiere que el compuesto de acuerdo con la invención sea una molécula lineal o se sintetice como una molécula lineal. El oligómero es una molécula monocatenaria, y preferiblemente no comprende regiones cortas de, por ejemplo, al menos 3, 4 ó 5 nucleobases contiguas, que sean complementarias a regiones equivalentes dentro del mismo oligómero (es decir dúplex) – en estos aspectos, el oligómero no es (esencialmente) bicatenario. En diversas realizaciones, el oligómero no es esencialmente bicatenario, es decir no es un siRNA. El oligómero comprende o consiste en una secuencia de nucleobases contiguas. En diversas realizaciones, el oligómero de la invención puede estar constituido enteramente por la región de nucleobases contiguas. En diversas realizaciones, la secuencia de nucleobases del oligómero consiste en la secuencia de nucleobases contiguas.

La diana

La expresión "ácido nucleico diana", como se utiliza en esta memoria, hace referencia al DNA que codifica el polipéptido β -catenina de mamífero, tal como β -catenina humana, tal como SEQ ID NO 173, ácidos nucleicos codificantes de β -catenina o variantes de los mismos existentes naturalmente, y ácidos nucleicos RNA derivados de los mismos, preferiblemente mRNA, tal como pre-mRNA, aunque preferiblemente mRNA maduro. En diversas realizaciones, por ejemplo cuando se utiliza en investigación o diagnóstico, el "ácido nucleico diana" puede ser un cDNA o un oligonucleótido sintético derivado de las dianas de ácido nucleico DNA o RNA anteriores. El compuesto oligómero de acuerdo con la invención es preferiblemente capaz de hibridarse al ácido nucleico diana.

La expresión "ácido nucleico diana", puede, en diversas realizaciones, ser v.g., los exones de genes humanos que tienen los Nos. de acceso X89579, X89593, X89592, X89591, X89588, X89585, X89584 y X89578), o un mRNA de β -catenina de mamífero tal como SEQ ID NO 173. Ejemplos de otros mRNAs de β -catenina de mamífero incluyen, pero sin carácter limitante, aquéllos que tienen los Números de Acceso NM_001098209, NM_0010987210 (mRNA de β -catenina humana); NM_007614 (mRNA de β -catenina de ratón); NM_053357 (mRNA de β -catenina de rata); NM_001122762, DQ267491 (mRNA de β -catenina de caballo); NM_214367 (mRNA de β -catenina de cerdo); BC119949, BT030683 (mRNA de β -catenina de vaca). Por supuesto, debe reconocerse que los números de acceso anteriores se refieren a la secuencia de cDNA y no a la secuencia de mRNA per se - la secuencia de mRNA madura puede, por supuesto, derivarse directamente de la secuencia de cDNA - reemplazándose los residuos timina (T) por residuos uracilo (U).

Como se utiliza en esta memoria, "hibridación" significa enlaces de hidrógeno, que pueden ser enlaces Watson-Crick, Hoogsteen, enlaces de hidrógeno Hoogsteen inversos, etc entre bases complementarias nucleótido/nucleobase. Watson y Crick demostraron hace aproximadamente 50 años que el ácido desoxirribonucleico (DNA) está compuesto por dos cadenas que se mantienen unidas en una configuración helicoidal por enlaces de hidrógeno formados entre nucleobases complementarias opuestas en las dos cadenas. Las cuatro nucleobases, encontradas comúnmente en DNA son guanina (G), adenina (A), timina (T) y citosina (C) de las cuales la nucleobase G se aparea con C, y la nucleobase A se aparea con T. En el RNA, la nucleobase timina se reemplaza por la nucleobase uracilo (U) que análogamente a la nucleobase T se aparea con A. Los grupos químicos en las nucleobases que participan en la formación de los dúplex estándar constituyen la cara Watson-Crick. Hoogsteen demostró un par de años más tarde que las nucleobases de purina (G y A) además de su cara Watson-Crick tienen una cara Hoogsteen que puede reconocerse desde el exterior de un dúplex, y utilizarse para fijar oligonucleótidos de pirimidina por enlaces de hidrógeno, formando con ello una estructura de triple hélice.

Es muy preferido que los compuestos de la invención sean capaces de hibridarse al ácido nucleico diana, tal como el mRNA.

Convenientemente, el oligómero o conjugado de la invención es capaz de inhibir dicha expresión reguladora decreciente del gen de β -catenina. En diversas realizaciones, los oligómeros de la invención se unen al ácido nucleico diana y efectúan una inhibición de la expresión de al menos 10% o 20% comparada con el nivel de expresión normal, más preferiblemente como mínimo un 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 95% de inhibición comparada con el nivel de expresión normal. En algunas realizaciones, dicha modulación se observa cuando se utiliza entre 1 y 25 nM del oligómero o conjugado de la invención. En la misma realización o en una realización diferente, la inhibición de la expresión es menor que 100%, tal como menor que 98% de inhibición, menor que 95% de inhibición, menor que 90% de inhibición, menor que 80% de inhibición, tal como menor que 70% de inhibición. La modulación del nivel de expresión puede determinarse por medida de los niveles de proteínas, v.g. por métodos tales como SDS-PAGE seguida por transferencia Western utilizando anticuerpos adecuados generados contra la proteína diana. Alternativamente, la modulación, tal como inhibición, de los niveles de expresión puede determinarse por medida de los niveles de mRNA, v.g. por transferencia Northern o RT-PCR cuantitativa. Cuando se mide por los niveles de mRNA, el nivel de inhibición o regulación decreciente cuando se utiliza una dosificación apropiada, tal como entre 1 y 25 nM es, en diversas realizaciones, típicamente hasta un nivel comprendido entre 10 y 20% de los niveles normales en la ausencia del compuesto de la invención.

La invención proporciona por tanto un método de regulación decreciente o inhibición de la expresión de la proteína y/o mRNA de β -catenina en una célula que expresa la proteína y/o mRNA de β -catenina, comprendiendo dicho método administrar el oligómero o conjugado de acuerdo con la invención a dicha célula para regular en sentido decreciente o inhibir la expresión de la proteína y/o el mRNA de β -catenina en dicha célula. Convenientemente, la célula es una célula de mamífero tal como una célula humana. La administración puede tener lugar, en diversas realizaciones, *in vitro*. La administración puede tener lugar, en diversas realizaciones, *in vivo*.

La expresión "ácido nucleico diana", como se utiliza en esta memoria, se refiere al DNA que codifica el polipéptido de β -catenina de mamífero, tal como β -catenina humana, tal como SEQ ID NO 173. Ácidos nucleicos codificantes de β -catenina o variantes de los mismos existentes naturalmente, y ácidos nucleicos de RNA derivados de los mismos, preferiblemente mRNA, tales como pre-mRNA, aunque preferiblemente mRNA maduro. En diversas realizaciones, por ejemplo cuando se utiliza en investigación o en diagnóstico, el "ácido nucleico diana" puede ser un cDNA o un oligonucleótido sintético derivado de las dianas de ácido nucleico DNA o RNA anteriores. El oligómero de acuerdo con la invención es preferiblemente capaz de hibridarse al ácido nucleico diana.

La expresión "variante del mismo existente naturalmente" hace referencia a variantes de la secuencia del polipéptido o ácido nucleico de β -catenina que existen naturalmente dentro del grupo taxonómico definido, tal como mamífero, tal como ratón, mono, y preferiblemente humano. Típicamente, cuando se hace referencia a "variantes existentes naturalmente" de un polinucleótido, el término puede abarcar también cualquier variante alélica del DNA genómico codificante de β -catenina que se encuentra en el cromosoma Chr 3:41.22-41.26 Mb por translocación cromosómica o duplicación, y el RNA, tal como mRNA derivado del mismo. Cuando se hace referencia a una secuencia de polipéptido específica, v.g., el término incluye también formas existentes naturalmente de la proteína que pueden procesarse en consecuencia, v.g. por modificaciones simultáneas o posteriores a la traducción, tales como escisión del péptido señal, escisión proteolítica, glicosilación, etc.

La expresión "al menos una" comprende los números enteros mayores que o iguales a 1, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, etcétera.

En diversas realizaciones, tales como cuando se hace referencia a las dianas de ácido nucleico o proteína de los compuestos de la invención, la expresión "al menos 1" incluye los términos "al menos 2", y "al menos 3" y "al menos 4", y análogamente la expresión "al menos 2" puede comprender las expresiones "al menos 3" y "al menos 4".

Secuencias

Los oligómeros de la invención pueden direccionar el mRNA de β -catenina humana, y como tales los mismos comprenden o consisten en una secuencia de nucleobases contiguas que corresponde a una secuencia de nucleótidos presente en SEQ ID NO: 173, o una secuencia seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NOS: 1-132, en donde dicho oligómero (o porción de nucleobases contiguas del mismo) puede comprender opcionalmente 1, 2, ó 3 apareamientos erróneos contra dicha secuencia seleccionada. En diversas realizaciones, las secuencias de oligonucleótidos están constituidas por o comprenden una secuencia de 10-16 nucleobases (contiguas). Ejemplos de secuencias de oligonucleótidos que comprenden 16 nucleobases se muestran en SEQ ID NOS: 1, 16, 17, 18, 33, 34, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 73, 88, 103, y 118. Secuencias más cortas pueden derivarse de ellas. Secuencias más largas pueden incluir la totalidad, o al menos 10 nucleobases de la SEQ ID NO. respectiva.

Tabla 1 Secuencias de oligonucleótidos antisentido (Motivos)			
SEQ ID NO	Secuencia (5'-3')	Longitud (bases)	Descripción
SEQ ID NO: 1	GAAAGCTGATGGACCA	16	Secuencia de oligo antisentido
SEQ ID NO: 2	GAAAGCTGATGGACC	15	como arriba
SEQ ID NO: 3	AAAGCTGATGGACCA	15	como arriba
SEQ ID NO: 4	GAAAGCTGATGGAC	14	como arriba
SEQ ID NO: 5	AAAGCTGATGGACC	14	como arriba
SEQ ID NO: 6	AAGCTGATGGACCA	14	como arriba
SEQ ID NO: 7	GAAAGCTGATGGA	13	como arriba
SEQ ID NO: 8	AAAGCTGATGGAC	13	como arriba
SEQ ID NO: 9	AAGCTGATGGACC	13	como arriba
SEQ ID NO: 10	AGCTGATGGACCA	13	como arriba
SEQ ID NO: 11	GAAAGCTGATGG	12	como arriba
SEQ ID NO: 12	AAAGCTGATGGA	12	como arriba
SEQ ID NO: 13	AAGCTGATGGAC	12	como arriba
SEQ ID NO: 14	AGCTGATGGACC	12	como arriba
SEQ ID NO: 15	GCTGATGGACCA	12	como arriba
SEQ ID NO: 16	CAGACTTAAAGATGGC	16	como arriba
SEQ ID NO: 17	CAGAATCCACTGGTGA	16	como arriba
SEQ ID NO: 18	GCACTGCCATTTTAGC	16	como arriba
SEQ ID NO: 19	GCACTGCCATTTTAG	15	como arriba
SEQ ID NO: 20	CACTGCCATTTTAGC	15	como arriba
SEQ ID NO: 21	GCACTGCCATTTTA	14	como arriba
SEQ ID NO: 22	CACTGCCATTTTAG	14	como arriba
SEQ ID NO: 23	ACTGCCATTTTAGC	14	como arriba
SEQ ID NO: 24	GCACTGCCATTTT	13	como arriba
SEQ ID NO: 25	CACTGCCATTTTA	13	como arriba
SEQ ID NO: 26	ACTGCCATTTTAG	13	como arriba
SEQ ID NO: 27	CTGCCATTTTAGC	13	como arriba
SEQ ID NO: 28	GCACTGCCATTT	12	como arriba
SEQ ID NO: 29	CACTGCCATTTT	12	como arriba
SEQ ID NO: 30	ACTGCCATTTTA	12	como arriba
SEQ ID NO: 31	CTGCCATTTTAG	12	como arriba
SEQ ID NO: 32	TGCCATTTTAGC	12	como arriba
SEQ ID NO: 33	GTAATAGCCAAGAATT	16	como arriba
SEQ ID NO: 34	ACTCTGCTTGTGGTCC	16	como arriba
SEQ ID NO: 35	ACTCTGCTTGTGGTC	15	como arriba
SEQ ID NO: 36	CTCTGCTTGTGGTCC	15	como arriba
SEQ ID NO: 37	ACTCTGCTTGTGGT	14	como arriba

Tabla 1 Secuencias de oligonucleótidos antisentido (Motivos)			
SEQ ID NO	Secuencia (5'-3')	Longitud (bases)	Descripción
SEQ ID NO: 38	CTCTGCTTGTGGTC	14	como arriba
SEQ ID NO: 39	TCTGCTTGTGGTCC	14	como arriba
SEQ ID NO: 40	ACTCTGCTTGTGG	13	como arriba
SEQ ID NO: 41	CTCTGCTTGTGGT	13	como arriba
SEQ ID NO: 42	TCTGCTTGTGGTC	13	como arriba
SEQ ID NO: 43	CTGCTTGTGGTCC	13	como arriba
SEQ ID NO: 44	ACTCTGCTTGTG	12	como arriba
SEQ ID NO: 45	CTCTGCTTGTGG	12	como arriba
SEQ ID NO: 46	TCTGCTTGTGGT	12	como arriba
SEQ ID NO: 47	CTGCTTGTGGTC	12	como arriba
SEQ ID NO: 48	TGCTTGTGGTCC	12	como arriba
SEQ ID NO: 49	CCACCAGCTTCTACAA	16	como arriba
SEQ ID NO: 50	GAGTCCAAAGACAGTT	16	como arriba
SEQ ID NO: 51	ACCCACTTGGCAGACC	16	como arriba
SEQ ID NO: 52	GCACAAACAATGGAAT	16	como arriba
SEQ ID NO: 53	GCAGCTACTCTTTGGA	16	como arriba
SEQ ID NO: 54	CTCCCTCAGCTTCAAT	16	como arriba
SEQ ID NO: 55	GCAGTCTCATTCCAAG	16	como arriba
SEQ ID NO: 56	TATCCACCAGAGTGAA	16	como arriba
SEQ ID NO: 57	CATCCATGAGGTCCTG	16	como arriba
SEQ ID NO: 58	CCATCTTGTGATCCAT	16	como arriba
SEQ ID NO: 59	CCATCTTGTGATCCA	15	como arriba
SEQ ID NO: 60	CATCTTGTGATCCAT	15	como arriba
SEQ ID NO: 61	CATCTTGTGATCC	14	como arriba
SEQ ID NO: 62	CATCTTGTGATCCA	14	como arriba
SEQ ID NO: 63	ATCTTGTGATCCAT	14	como arriba
SEQ ID NO: 64	CCATCTTGTGATC	13	como arriba
SEQ ID NO: 65	CATCTTGTGATCC	13	como arriba
SEQ ID NO: 66	ATCTTGTGATCCA	13	como arriba
SEQ ID NO: 67	TCTTGTGATCCAT	13	como arriba
SEQ ID NO: 68	CCATCTTGTGAT	12	como arriba
SEQ ID NO: 69	CATCTTGTGATC	12	como arriba
SEQ ID NO: 70	ATCTTGTGATCC	12	como arriba
SEQ ID NO: 71	TCTTGTGATCCA	12	como arriba
SEQ ID NO: 72	CTTGTGATCCAT	12	como arriba
SEQ ID NO: 73	AAGCAAGCAAAGTCAG	16	como arriba
SEQ ID NO: 74	AAGCAAGCAAAGTCA	15	como arriba
SEQ ID NO: 75	AGCAAGCAAAGTCAG	15	como arriba
SEQ ID NO: 76	AAGCAAGCAAAGTC	14	como arriba

Tabla 1 Secuencias de oligonucleótidos antisentido (Motivos)			
SEQ ID NO	Secuencia (5'-3')	Longitud (bases)	Descripción
SEQ ID NO: 77	AGCAAGCAAAGTC	14	como arriba
SEQ ID NO: 78	GCAAGCAAAGTCAG	14	como arriba
SEQ ID NO: 79	AAGCAAGCAAAGT	13	como arriba
SEQ ID NO: 80	AGCAAGCAAAGTC	13	como arriba
SEQ ID NO: 81	GCAAGCAAAGTCA	13	como arriba
SEQ ID NO: 82	CAAGCAAAGTCAG	13	como arriba
SEQ ID NO: 83	AAGCAAGCAAAG	12	como arriba
SEQ ID NO: 84	AGCAAGCAAAGT	12	como arriba
SEQ ID NO: 85	GCAAGCAAAGTC	12	como arriba
SEQ ID NO: 86	CAAGCAAAGTCA	12	como arriba
SEQ ID NO: 87	AAGCAAAGTCAG	12	como arriba
SEQ ID NO: 88	GAAATTGCTGTAGCAG	16	como arriba
SEQ ID NO: 89	GAAATTGCTGTAGCA	15	como arriba
SEQ ID NO: 90	AAATTGCTGTAGCAG	15	como arriba
SEQ ID NO: 91	GAAATTGCTGTAGC	14	como arriba
SEQ ID NO: 92	AAATTGCTGTAGCA	14	como arriba
SEQ ID NO: 93	AATTGCTGTAGCAG	14	como arriba
SEQ ID NO: 94	GAAATTGCTGTAG	13	como arriba
SEQ ID NO: 95	AAATTGCTGTAGC	13	como arriba
SEQ ID NO: 96	AATTGCTGTAGCA	13	como arriba
SEQ ID NO: 97	ATTGCTGTAGCAG	13	como arriba
SEQ ID NO: 98	GAAATTGCTGTA	12	como arriba
SEQ ID NO: 99	AAATTGCTGTAG	12	como arriba
SEQ ID NO: 100	AATTGCTGTAGC	12	como arriba
SEQ ID NO: 101	ATTGCTGTAGCA	12	como arriba
SEQ ID NO: 102	TTGCTGTAGCAG	12	como arriba
SEQ ID NO: 103	GTGTTCTACACCATTA	16	como arriba
SEQ ID NO: 104	GTGTTCTACACCATT	15	como arriba
SEQ ID NO: 105	TGTTCTACACCATTA	15	como arriba
SEQ ID NO: 106	GTGTTCTACACCAT	14	como arriba
SEQ ID NO: 107	TGTTCTACACCATT	14	como arriba
SEQ ID NO: 108	GTTCTACACCATTA	14	como arriba
SEQ ID NO: 109	GTGTTCTACACCA	13	como arriba
SEQ ID NO: 110	TGTTCTACACCAT	13	como arriba
SEQ ID NO: 111	GTTCTACACCATT	13	como arriba
SEQ ID NO: 112	TTCTACACCATTA	13	como arriba
SEQ ID NO: 113	GTGTTCTACACC	12	como arriba
SEQ ID NO: 114	TGTTCTACACCA	12	como arriba
SEQ ID NO: 115	GTTCTACACCAT	12	como arriba

Tabla 1 Secuencias de oligonucleótidos antisentido (Motivos)			
SEQ ID NO	Secuencia (5'-3')	Longitud (bases)	Descripción
SEQ ID NO: 116	TTCTACACCATT	12	como arriba
SEQ ID NO: 117	TCTACACCATTA	12	como arriba
SEQ ID NO: 118	AACATGAAATAGATCC	16	como arriba
SEQ ID NO: 119	AACATGAAATAGATC	15	como arriba
SEQ ID NO: 120	ACATGAAATAGATCC	15	como arriba
SEQ ID NO: 121	AACATGAAATAGAT	14	como arriba
SEQ ID NO: 122	ACATGAAATAGATC	14	como arriba
SEQ ID NO: 123	CATGAAATAGATCC	14	como arriba
SEQ ID NO: 124	AACATGAAATAGA	13	como arriba
SEQ ID NO: 125	ACATGAAATAGAT	13	como arriba
SEQ ID NO: 126	CATGAAATAGATC	13	como arriba
SEQ ID NO: 127	ATGAAATAGATCC	13	como arriba
SEQ ID NO: 128	AACATGAAATAG	12	como arriba
SEQ ID NO: 129	ACATGAAATAGA	12	como arriba
SEQ ID NO: 130	CATGAAATAGAT	12	como arriba
SEQ ID NO: 131	ATGAAATAGATC	12	como arriba
SEQ ID NO: 132	TGAAATAGATCC	12	como arriba

5 La invención proporciona adicionalmente secuencias diana en el gen de β -catenina, en particular las que corresponden a (es decir el complemento inverso de) SEQ ID NOS: 1-132, en donde los oligonucleótidos (oligómeros) antisentido correspondientes a dichas secuencias diana son capaces de regular en sentido decreciente la β -catenina. Por ejemplo, secuencias diana que corresponden a las secuencias de oligonucleótidos antisentido SEQ ID NOS: 1, 16, 17, 18, 33, 34, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 73, 88, 103, y 118, respectivamente, se muestran en la Figura 1 (en negrita y subrayadas, con los oligo SEQ ID NOs arriba indicados).

10 El oligómero de la invención puede, convenientemente, comprender o consistir en o derivarse de (por ejemplo comprendiendo una secuencia de nucleobases contiguas correspondientes encontrada dentro de dicha SEQ ID), una secuencia seleccionada de SEQ ID NOS: 174-193. Preferiblemente, la secuencia comprende una secuencia de 10-16 nucleobases. Ejemplos de secuencias que comprenden 16 nucleobases se muestran en una SEQ ID seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NOS: 1, 16, 17, 18, 33, 34, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 73, 88, 103, y 118. Secuencias que tienen menos nucleobases, tales como 10, 11, 12, 13, 14, ó 15, pueden tener por
15 consiguiente una secuencia de nucleobases contiguas que corresponde a una sub-secuencia, por ejemplo de al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 ó 15, nucleobases contiguas encontradas en SEQ ID NOS: 1, 16, 17, 18, 33, 34, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 73, 88, 103, y 118. Por tanto, secuencias más cortas pueden derivarse de ellas. Las secuencias más largas pueden incluir todas, o al menos 10 nucleobases de dichas SEQ ID NOs citadas como ejemplos. Típicamente, si está presente sólo una
20 porción de la secuencia del oligonucleótido en una SEQ ID seleccionada de SEQ ID NOS: 1, 16, 17, 18, 33, 34, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 73, 88, 103, y 118, entonces la porción restante de la secuencia del oligonucleótido es homóloga a los nucleótidos correspondientes que flanquean dicha SEQ ID. Dos motivos de secuencia interesantes son SEQ ID NO 58 y SEQ ID NO 103.

25 Se dan a conocer también diseños específicos de oligómeros de la invención, por ejemplo los representados en SEQ ID NOS: 133-152, en particular SEQ ID NOS: 133, 134, 135, 136, 138, 141, 148, 149, 150, 151 y 152. Se dan a conocer también diseños específicos de oligonucleótidos de LNA, por ejemplo los que se muestran en SEQ ID NOS: 153-172, en particular SEQ ID NOS: 153, 154, 155, 156, 158, 161, 168, 169, 170, 171 y 172. En realizaciones preferidas, se considera que los oligómeros de la invención son inhibidores potentes de la expresión del mRNA y de
30 la proteína beta-catenina.

En ciertas realizaciones, el oligómero puede comprender o estar constituido por una secuencia de nucleobases contiguas que es totalmente complementaria (perfectamente complementaria a la región equivalente de un ácido nucleico que codifica una β -catenina de mamífero.).

- 5 Sin embargo, en algunas realizaciones, el oligómero puede incluir, 1, 2, 3, ó 4 (o más) apareamientos erróneos, cuando se hibrida a la secuencia diana y fijarse todavía suficientemente a la diana para exhibir el efecto deseado, es decir la regulación deficiente de la diana. Los apareamientos erróneos pueden estar compensados, por ejemplo, por una longitud incrementada de la secuencia de nucleobases oligómeras y/o un número incrementado de análogos nucleotídicos, tales como LNA, presentes en la secuencia de nucleobases.
- 10 En diversas realizaciones, la secuencia de nucleobases contiguas comprende no más de 3, tal como no más de 2 apareamientos erróneos a la secuencia diana, tal como la región correspondiente de un ácido nucleico que codifica una β -catenina de mamífero.
- 15 En diversas realizaciones, la secuencia de nucleobases contiguas comprende no más de un solo apareamiento erróneo a la secuencia diana, tal como la región correspondiente de un ácido nucleico que codifica una β -catenina de mamífero.
- 20 La secuencia de nucleobases de los oligómeros de la invención o la secuencia de nucleobases contiguas es preferiblemente homóloga al menos en un 80% a una secuencia correspondiente seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NOS: 1-132, tal como homóloga al menos en un 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, tal como homóloga en un 100% (idéntica).
- 25 La secuencia de nucleobases de los oligómeros de la invención o la secuencia de nucleobases contiguas es preferiblemente homóloga al menos en un 80% a una secuencia correspondiente presente en SEQ ID NO: 173, tal como al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, tal como homóloga en un 100% (idéntica).
- 30 La secuencia de nucleobases de los oligómeros de la invención o la secuencia de nucleobases contiguas es preferiblemente complementaria al menos en un 80% a una sub-secuencia presente en SEQ ID NO: 173, tal como al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, tal como complementaria en un 100% (perfectamente complementaria).
- 35 En diversas realizaciones, el oligómero (o la porción de nucleobases contiguas del mismo) se selecciona de, o comprende, una de las secuencias seleccionadas del grupo constituido por SEQ ID NOS: 1-132 o SEQ ID NOS: 174-193, o una sub-secuencia de al menos 10 nucleobases contiguas del mismo, en donde dicho oligómero (o porción de nucleobases contiguas del mismo) puede comprender opcionalmente uno, dos, o tres apareamientos erróneos contra dicha secuencia seleccionada.
- 40 En diversas realizaciones, la sub-secuencia puede consistir en 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, ó 29 nucleobases contiguas, tales como entre 10 y 15, entre 12 y 25, y entre 12 y 22, tal como entre 12 y 18 nucleobases. Convenientemente, en diversas realizaciones, la sub-secuencia tiene la misma longitud de la secuencia de nucleobases contiguas del oligómero de la invención.
- 45 No obstante, se reconoce que, en diversas realizaciones, la secuencia de nucleobases del oligómero puede comprender nucleobases 5' ó 3' adicionales, tales como independientemente, 1, 2, 3, 4 ó 5 nucleobases 5' y/o 3' adicionales, que no son complementarias a la secuencia diana. A este respecto, el oligómero de la invención puede, en diversas realizaciones, comprender una secuencia de nucleobases contiguas que está flanqueada en 5' y/p 3' por nucleobases adicionales. En diversas realizaciones, el extremo 3' de la secuencia de nucleobases contiguas está flanqueado por 1, 2 ó 3 unidades de DNA o RNA. Frecuentemente se utilizan unidades 3' de DNA durante la síntesis de oligómeros en estado sólido. En diversas realizaciones, que pueden ser iguales o diferentes, el extremo 5' de la secuencia de nucleobases contiguas está flanqueado por 1, 2 ó 3 unidades de DNA o RNA. En diversas realizaciones, las nucleobases 5' o 3' adicionales son nucleótidos existentes naturalmente, tales como DNA o RNA. En diversas realizaciones, las nucleobases 5' o 3' adicionales pueden representar una región D como se hace referencia al mismo en el contexto de los oligómeros gámero en esta memoria.
- 50 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO 1, o una sub-secuencia de la misma.
- 55 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO 16, o una sub-secuencia de la misma.
- 60 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO: 17, o una sub-secuencia de la misma.

En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:18, o una sub-secuencia de la misma.

5 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:33, o una sub-secuencia de la misma.

En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:34, o una sub-secuencia de la misma.

10 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:49, o una sub-secuencia de la misma.

En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:50, o una sub-secuencia de la misma.

15 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:51, o una sub-secuencia de la misma.

20 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:52, o una sub-secuencia de la misma.

En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:53, o una sub-secuencia de la misma.

25 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:54, o una sub-secuencia de la misma.

En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:55, o una sub-secuencia de la misma.

30 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:56, o una sub-secuencia de la misma.

35 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:57, o una sub-secuencia de la misma.

En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:58, o una sub-secuencia de la misma.

40 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:73, o una sub-secuencia de la misma.

En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:88, o una sub-secuencia de la misma.

45 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO: 103, o una sub-secuencia de la misma.

50 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en o comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con SEQ ID NO:118, o una sub-secuencia de la misma.

55 Cuando se determina la "homología" o "complementariedad" entre los oligómeros de la invención (o secuencia de nucleobases contiguas) y el ácido nucleico que codifica la β -catenina de mamífero, tal como los descritos en esta memoria, la determinación de homología puede hacerse por una simple alineación con la secuencia de nucleobases correspondiente del compuesto de la invención y la región correspondiente del ácido nucleico que codifica la β -catenina de mamífero (o el ácido nucleico diana), o complemento de la misma, y la homología se determina contando el número de bases que se alinean y dividiendo el número total de nucleobases contiguas en el compuesto (oligómero) de la invención, y multiplicando por 100. En dicha comparación, si existen lagunas, es preferible que tales lagunas sean simplemente apareamientos erróneos en lugar de áreas en las que el número de nucleobases dentro de la laguna difiera entre la secuencia de nucleobases de la invención y el ácido nucleico diana-

60 La homología de aminoácidos y polinucleótidos puede determinarse utilizando el algoritmo ClustalW con empleo de ajustes estándar: véase <http://www.ebi.ac.uk/emboss/align/index.html>. Método: EMBOSS::agua (local): Abertura de Laguna = 10,0, Amplitud de Laguna = 0,5, utilizando Blosum 62 (proteína), o DNFull para secuencias de

nucleótidos/nucleobases. Tales alineaciones pueden utilizarse también para identificar regiones de los ácidos nucleicos que codifican β -catenina de humano y una especie de mamífero diferente, tal como mono, ratón y/o rata, donde existen suficientes tramos de complementariedad de ácido nucleico que permiten el diseño de oligonucleótidos que están direccionados tanto al ácido nucleico diana de β -catenina humana, como a los ácidos nucleicos correspondientes presentes en las diferentes especies de mamífero, tales como oligómeros que consisten en o comprenden regiones de al menos 10, tales como al menos 12, tales como al menos 14, tales como al menos 16, tales como al menos 18, tales como 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ó 18 nucleobases contiguas que son 100% complementarias a las regiones equivalentes tanto del ácido nucleico codificante de β -catenina de humanos como al o a los ácidos nucleicos que codifican β -catenina de la especie de mamífero diferente.

En diversas realizaciones, el oligómero de la invención comprende o consiste en una secuencia de nucleobases contiguas que es homóloga al menos en un 80%, tal como al menos 85%, tal como al menos 90%, tal como al menos 95%, tal como al menos 98%, tal como al menos 99%, o 100% a la región correspondiente tanto del ácido nucleico codificante de β -catenina de humanos como a uno o más ácidos nucleicos codificantes de β -catenina de la especie de mamífero diferente, tal como el ácido nucleico de ratón que codifica β -catenina – (es decir 80%-100% complementaria para las regiones equivalentes de la secuencia humana y la secuencia de ratón). Es preferible que la secuencia de nucleobases contigua del oligómero sea 100% complementaria a la región equivalente del mRNA de β -catenina humana.

Las expresiones "correspondiente a" y "corresponde a" se refieren a la comparación entre la secuencia de nucleobases del oligómero o la secuencia de nucleobases contiguas y la secuencia de nucleótidos equivalente de i) el complemento inverso del ácido nucleico diana, tal como mRNA que codifica la proteína β -catenina, tal como SEQ ID NO: 173, y/o ii) la secuencia de nucleótidos proporcionada en esta memoria, tal como el grupo constituido por SEQ ID NO: 1-132 o SEQ ID NOs 174-193. Los análogos de nucleótidos se comparan directamente con sus nucleótidos equivalentes o correspondientes.

Las expresiones "análogo de nucleótido correspondiente" y "nucleótido correspondiente" tienen por objeto indicar que la nucleobase en el análogo de nucleótido y el nucleótido existente naturalmente son idénticas. Por ejemplo, cuando la unidad 2-desoxirribosa de nucleótido está enlazada a una adenina, el "análogo de nucleótido correspondiente" contiene una unidad pentosa (diferente de 2-desoxirribosa) enlazada a una adenina.

Longitud

El oligómero comprende o consiste en una secuencia de nucleobases contiguas con un total de entre 10 y 50 nucleobases, tales como 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 nucleobases contiguas de longitud.

En diversas realizaciones, los oligómeros comprenden o consisten en una secuencia de nucleobases contiguas que tiene una longitud total comprendida entre 10 y 25, 10 y 24, 12 y 25, 12 y 24, ó 10 y 22, tal como 12-18, tal como 13-17 ó 11-16, tal como 13, 14, 15, 16 nucleobases contiguas.

En diversas realizaciones, los oligómeros comprenden o consisten en una secuencia de nucleobases contiguas que tiene una longitud total de 10, 11, 12, 13 ó 14 nucleobases contiguas.

En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención consiste en no más de 22 nucleobases, tal como no más de 20 nucleobases, tal como no más de 17 nucleobases, tal como 15, 16 ó 17 nucleobases. En diversas realizaciones, el oligómero de la invención comprende menor que 20 nucleobases.

Nucleótidos y análogos de nucleótidos

El término "nucleótido", como se utiliza en esta memoria, hace referencia a un glicosido que comprende un resto azúcar, un resto base y un grupo fosfato enlazado covalentemente y abarca ambos nucleótidos existentes naturalmente, tales como DNA o RNA, preferiblemente DNA. A los nucleótidos que no existen naturalmente, que comprenden restos azúcar y/o base modificados, se hace referencia en esta memoria como "análogos de nucleótidos". El término "nucleobase" se utiliza para abarcar tanto nucleótidos naturales (de tipo DNA o RNA) como análogos de nucleótidos.

Los nucleótidos no existentes naturalmente incluyen nucleótidos que tienen restos azúcar modificados, tales como nucleótidos bicíclicos o nucleótidos modificados en 2', tales como nucleótidos sustituidos en 2'.

Los "análogos de nucleótidos" son variantes de nucleótidos naturales, tales como nucleótidos de DNA o RNA, en virtud de modificaciones en los restos azúcar y/o base. Los análogos podrían ser en un principio meramente "silenciosos" o "equivalentes" a los nucleótidos naturales en el contexto del oligonucleótido, es decir que no tengan efecto funcional alguno en cuanto al modo en que actúa en el oligonucleótido para inhibir la expresión del gen diana.

5 Sin embargo, tales análogos "equivalentes" pueden ser útiles si, por ejemplo, los mismos son más fáciles o más económicos de producir, o son más estables al almacenamiento o a las condiciones de fabricación, o representan un identificador o marcador. Preferiblemente, sin embargo, los análogos tendrán un efecto funcional en cuanto al modo en que actúa el oligómero para inhibir la expresión; por ejemplo, por producción de afinidad incrementada de fijación a la diana y/o resistencia incrementada a las nucleasas intracelulares y/o facilidad incrementada de transporte a la célula.

10 El término "nucleobase" se utiliza como un término colectivo que abarca tanto nucleótidos como análogos de nucleótidos. Una secuencia de nucleobases es una secuencia que comprende al menos dos nucleótidos o análogos de nucleótidos. En diversas realizaciones, la secuencia de nucleobases puede comprender solamente nucleótidos, tales como unidades de DNA; en una realización alternativa, la secuencia de nucleobases puede comprender solamente análogos de nucleótidos, tales como unidades de LNA, o en diversas realizaciones la secuencia de nucleobases puede comprender a la vez unidades de nucleótidos y análogos de nucleótidos.

15 La expresión "ácido nucleico" se define como una molécula formada por enlace covalente de dos o más nucleótidos.

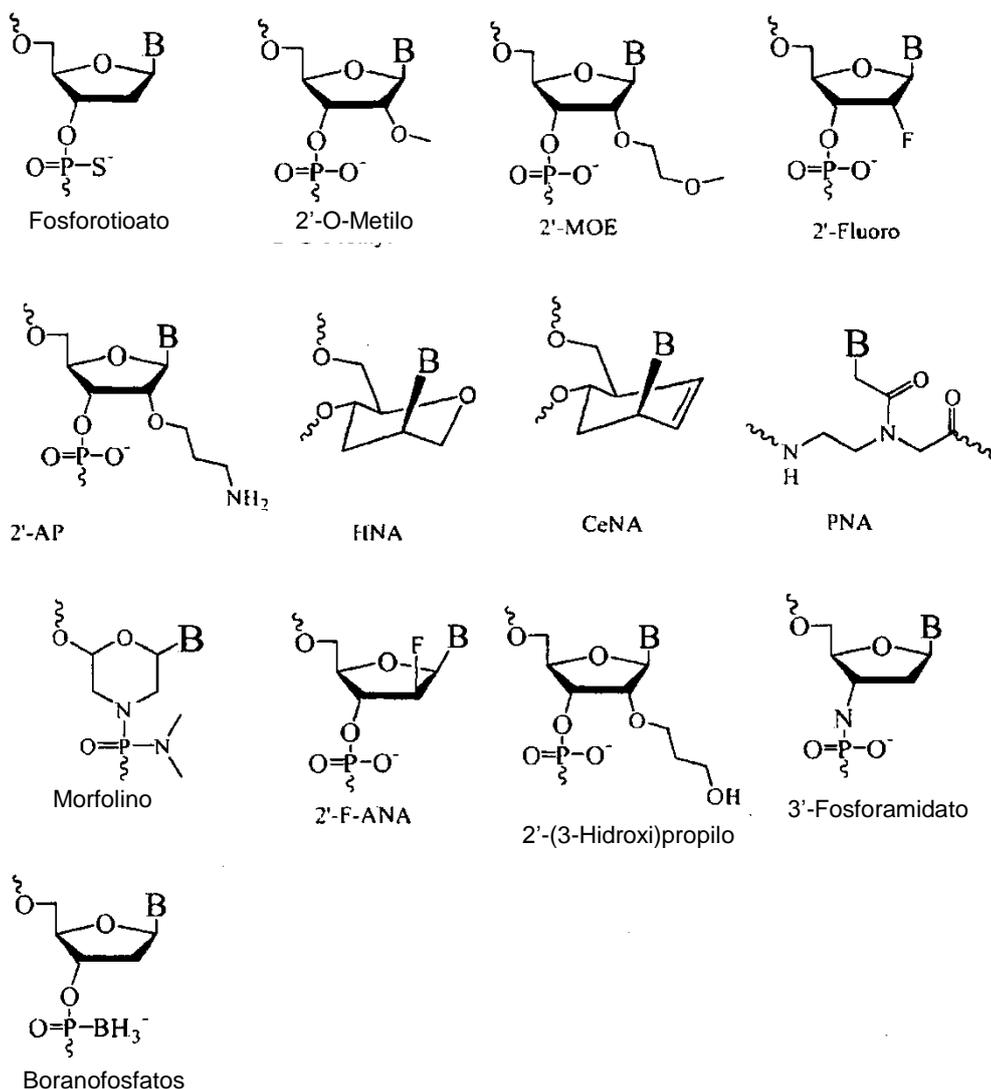
Las expresiones "ácido nucleico" y "polinucleótido" se utilizan intercambiamente en esta memoria.

20 El "resto base" de una nucleobase abarca la base tanto de nucleobases existentes naturalmente como de nucleobases no existentes naturalmente. Así, el resto base abarca no sólo los heterociclos conocidos de purina y pirimidina, sino también análogos heterocíclicos y tautómeros de los mismos.

25 Ejemplos de tales restos base incluyen, pero sin carácter limitante, adenina, guanina, citosina, timidina, uracilo, xantina, hipoxantina, 5-metilcitosina, isocitosina, pseudoisocitosina, 5-bromouracilo, 5-propiniluracilo, 6-aminopurina, 2-aminopurina, inosina, diaminopurina, y 2-cloro-6-aminopurina.

30 En diversas realizaciones, al menos una de las nucleobases presentes en el oligómero comprende una base modificada, tal como se selecciona del grupo constituido por 5-metilcitosina, isocitosina, pseudoisocitosina, 5-bromouracilo, 5-propiniluracilo, 6-aminopurina, 2-aminopurina, inosina, diaminopurina, y 2-cloro-6-aminopurina.

Ejemplos específicos de nucleósidos/análogos de nucleótido se describen por v.g. Freier & Altmann, Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443 y Uhlmann; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213, y en el Esquema 1:



Esquema 1

- 5 El oligómero puede comprender o consistir en una secuencia simple de nucleótidos existentes naturalmente - preferiblemente 2'-desoxinucleótidos (a los que se hace referencia en esta memoria generalmente como "DNA"), pero también posiblemente ribonucleótidos (a los que se hace referencia en esta memoria generalmente como "RNA"), o una combinación de tales nucleótidos existentes naturalmente y uno o más nucleótidos no existentes naturalmente, es decir análogos de nucleótidos. Tales análogos de nucleótidos pueden mejorar convenientemente la
- 10 la afinidad del oligómero para la secuencia diana.

Ejemplos de análogos de nucleótidos adecuados y preferidos se describen en WO 2007/031091, o se mencionan en dicho lugar. Una modificación preferida del nucleótido incluye nucleótidos en los cuales el resto azúcar está modificado para proporcionar un grupo sustituyente en 2' o para producir una estructura puenteada (ácido nucleico bloqueado - LNA) que mejora la afinidad de fijación y proporciona también probablemente cierta resistencia incrementada a las nucleasas; modificación del enlace internucleotídico de su fosfodiéster normal a uno que es más resistente al ataque de las nucleasas, tal como fosforotioato o boranofosfato - estos dos, al ser escindibles por la RNasaH, permiten también dicha ruta de inhibición antisentido en la modulación de la expresión de β-catenina. La

15 incorporación de análogos de nucleótidos mejoradores de la afinidad en el oligómero, tales como LNA o azúcares sustituidos en 2', puede permitir que se reduzca el tamaño del oligómero que se fija específicamente, y puede reducir también el límite superior del tamaño del oligómero antes que tenga lugar una fijación inespecífica o aberrante.

En diversas realizaciones, el oligómero comprende al menos dos análogos de nucleótidos. En algunas realizaciones, el oligómero comprende 3-8 análogos de nucleótido, v.g. 6 ó 7 análogos de nucleótido. En algunas realizaciones

preferidas, al menos uno de dichos análogos de nucleótido es un ácido nucleico bloqueado (LNA); por ejemplo al menos 3 o al menos 4, o al menos 5, o al menos 6, o al menos 7, ó 8, de los análogos de nucleótidos pueden ser LNA. En algunas realizaciones, todos los análogos de nucleótido pueden ser LNA.

5 Se reconocerá que, cuando se hace referencia a un motivo de secuencia de nucleótidos o una secuencia de nucleótidos preferida, que está constituida solamente por nucleótidos, los oligómeros de la invención que se definen por dicha secuencia pueden comprender un análogo de nucleótido correspondiente en lugar de uno o más de los nucleótidos presentes en dicha secuencia, tales como unidades de LNA u otros análogos de nucleótido, que aumentan la estabilidad del dúplex/ T_m del dúplex oligómero/diana (es decir análogos de nucleótidos mejoradores de la afinidad).

10 En diversas realizaciones, cualesquiera apareamientos erróneos entre la secuencia de nucleótidos del oligómero y la secuencia diana se encuentran preferiblemente en regiones situadas fuera de los análogos de nucleótido mejoradores de la afinidad (por ejemplo las regiones A y C), tales como en la región B a la que se hace referencia en esta memoria, y/o la región D a la que se hace referencia en esta memoria, y/o en el sitio no modificado tales como nucleótidos de DNA en el oligonucleótido, y/o en regiones que son 5' ó 3' respecto a la secuencia de nucleobases contiguas.

15 Ejemplos de tal modificación del nucleótido incluyen modificación del resto azúcar para proporcionar un grupo sustituyente en 2' o producir una estructura puenteada (ácido nucleico bloqueado) que mejora la afinidad de fijación y puede proporcionar también resistencia incrementada a las nucleasas.

20 Un análogo de nucleótido preferido es LNA, tal como oxi-LNA (tal como β -D-oxi-LNA, y α -L-oxi-LNA), y/o amino-LNA (tal como β -D-amino-LNA y α -L-amino-LNA) y/o tio-LNA (tal como β -D-tio-LNA y α -L-tio-LNA) y/o ENA (tal como β -D-ENA y α -L-ENA). En diversas realizaciones, las unidades LNA son β -D-oxi-LNA.

25 En algunas realizaciones, los análogos de nucleótido presentes en el oligómero de la invención (por ejemplo en las regiones A y C mencionadas en esta memoria, se seleccionan independientemente de, por ejemplo: unidades 2'-O-alquil-RNA, unidades 2-amino-DNA, unidades 2'-fluoro-DNA, unidades LNA, unidades de ácido arabino-nucleico (ANA), unidades 2'-fluoro-ANA, unidades HNA, unidades INA (ácido nucleico de intercalación - Christensen, 2002. Nucl. Acids. Res. 2002, 30:4918-4925), y unidades 2' MOE. En diversas realizaciones existe solamente uno de los tipos anteriores de análogos de nucleótidos presentes en el oligómero de la invención, o la secuencia de nucleobases contiguas del mismo.

30 En diversas realizaciones, los análogos de nucleótidos son 2'-O-metoxietil-2RNA (2'MOE), monómeros 2'-fluoro-DNA o análogos de nucleótidos de LNA, y como tal, el oligonucleótido de la invención puede comprender análogos de nucleótidos que se seleccionan independientemente de estos 3 tipos de análogo, o puede comprender un solo tipo de análogo seleccionado de los 3 tipos. En diversas realizaciones, al menos uno de dichos análogos de nucleótido es 2'-MOE-RNA, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, ó 10 unidades de nucleótido 2'-MOE-RNA. En diversas realizaciones, al menos uno de dichos análogos de nucleótido es 2'-fluoro-DNA, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, ó 10 unidades de nucleótido 2'-fluoro-DNA.

35 En diversas realizaciones, el oligómero de acuerdo con la invención comprende al menos una unidad de Ácido Nucleico Bloqueado (LNA), tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, ó 8 unidades LNA, tal como entre 3 y 7 ó 4 a 8 unidades, o 3, 4, 5, 6 ó 7 unidades de LNA. En diversas realizaciones, todos los análogos de nucleótido son LNA. En algunas realizaciones, el oligómero puede comprender a la vez β -D-oxi-LNA, y una o más de las unidades de LNA siguientes: tio-LNA, amino-LNA, oxi-LNA, y/o ENA en cualesquiera configuraciones β -D o α -L o combinaciones de las mismas. En diversas realizaciones, todas las unidades citosina del LNA son 5'-metilcitosina. En diversas realizaciones de la invención, el oligómero puede comprender a la vez unidades de LNA y DNA. Preferiblemente, el total combinado de unidades LNA y DNA es 10-25, preferiblemente 10-20, aún más preferiblemente 12-16. En diversas realizaciones de la invención, la secuencia de nucleobases del oligómero, tal como la secuencia de nucleobases contiguas consiste en al menos un LNA y las unidades de nucleótidos restantes son unidades de DNA. En diversas realizaciones, el oligómero comprende únicamente análogos de nucleótido de LNA y nucleótidos existentes naturalmente (tales como RNA o DNA, muy preferiblemente nucleótidos de DNA), opcionalmente con grupos de enlace modificados tales como fosforotioato.

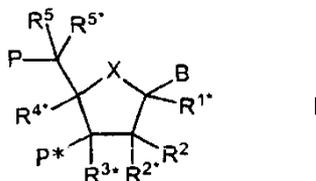
45 En diversas realizaciones, al menos una de las nucleobases presentes en el oligómero tiene una base modificada seleccionada del grupo constituido por 5-metilcitosina, isocitosina, pseudoisocitosina, 5-bromouracilo, 5-propiniluracilo, 6-aminopurina, 2-aminopurina, inosina, diaminopurina, y 2-cloro-6-aminopurina.

60

LNA

El término "LNA" se refiere a un análogo de nucleótido bicíclico, conocido como "Ácido Nucleico Bloqueado". El mismo puede referirse a un monómero de LNA, o, cuando se utiliza en el contexto de un "oligonucleótido de LNA" u "oligómero de LNA" se refiere a un oligómero que contiene uno o más de tales análogos de nucleótido bicíclicos.

El LNA utilizado en los oligómeros de la invención tiene preferiblemente la estructura de la fórmula general I



10

en donde X se selecciona de -O-, -S-, -N(R^{N*})-, -C(R⁶R^{6*})-;

15

B se selecciona de hidrógeno, C₁₋₄-alcoxi opcionalmente sustituido, C₁₋₄-alquilo opcionalmente sustituido, C₁₋₄-aciloxi opcionalmente sustituido, nucleobases, intercaladores de DNA, grupos fotoquímicamente activos, grupos termoquímicamente activos, grupos quelantes, grupos informadores, y ligandos;

20

P designa la posición radical para un enlace internucleotídico a un monómero sucesivo, o un grupo terminal 5', tal como un enlace internucleotídico o grupo terminal 5' que incluye opcionalmente el sustituyente R⁵ o es igualmente aplicable al sustituyente R^{5*};

20

P* designa un enlace internucleotídico a un monómero precedente, o un grupo terminal 3';

25

R^{4*} y R^{2*} designan juntos un birradical constituido por 1-4 grupos/átomos seleccionados de -C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)₂-, -S-, -SO₂-, -N(R^a)-, y >C=Z,

25

30

en donde Z se selecciona de -O-, -S-, y -N(R^a)-, y R^b y R^b se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, C₁₋₁₂-alquilo opcionalmente sustituido, C₂₋₁₂-alqueno opcionalmente sustituido, C₂₋₁₂-alquino opcionalmente sustituido, hidroxilo, C₁₋₁₂-alcoxi, C₂₋₁₂-alcoxialquilo, C₂₋₁₂-alquenoiloxi, carboxi, C₁₋₁₂-alcoxycarbonilo, C₁₋₁₂-alquilcarbonilo, formilo, arilo, ariloxi-carbonilo, ariloxi, arilcarbonilo, heteroarilo, heteroariloxi-carbonilo, heteroariloxi, heteroarilcarbonilo, amino, mono- y di(C₁₋₆-alquil)amino, carbamoilo, mono- y di(C₁₋₆-alquil)-amino-carbonilo, amino-C₁₋₆-alquil-aminocarbonilo, mono- y di(C₁₋₆-alquil)amino-C₁₋₆-alquil-aminocarbonilo, C₁₋₆-alquilcarbonilamino, carbamido, C₁₋₆-alcanoiloxi, sulfono, C₁₋₆-alquilsulfoniloxi, nitro, azido, sulfanilo, C₁₋₆-alquiltio, halógeno, intercaladores de DNA, grupos fotoquímicamente activos, grupos termoquímicamente activos, grupos quelantes, grupos informadores, y ligandos, donde arilo y heteroarilo pueden estar sustituidos opcionalmente y donde dos sustituyentes geminales R^a y R^b pueden designar juntos metileno (= CH₂) opcionalmente sustituido, y

35

40

cada uno de los sustituyentes R^{1*}, R², R³, R⁵, R^{5*}, R⁶ y R^{6*}, que están presentes se selecciona independientemente de hidrógeno, C₁₋₁₂-alquilo opcionalmente sustituido, C₂₋₁₂-alquenoiloxi opcionalmente sustituido, C₂₋₁₂-alquinoiloxi opcionalmente sustituido, hidroxilo, C₁₋₁₂-alcoxi, C₂₋₁₂-alcoxialquilo, C₂₋₁₂-alquenoiloxi, carboxi, C₁₋₁₂-alcoxycarbonilo, C₁₋₁₂-alquilcarbonilo, formilo, arilo, ariloxi-carbonilo, ariloxi, arilcarbonilo, heteroarilo, heteroariloxi-carbonilo, heteroariloxi, heteroarilcarbonilo, amino, mono- y di(C₁₋₆-alquil)amino, carbamoilo, mono- y di(C₁₋₆-alquil)-aminocarbonilo, amino-C₁₋₆-alquil-aminocarbonilo, mono- y di(C₁₋₆-alquil)amino-C₁₋₆-alquil-aminocarbonilo, C₁₋₆-alquil-carbonilamino, carbamido, C₁₋₆-alcanoiloxi, sulfono, C₁₋₆-alquilsulfoniloxi, nitro, azido, sulfanilo, C₁₋₆-alquiltio, halógeno, intercaladores de DNA, grupos fotoquímicamente activos, grupos termoquímicamente activos, grupos quelantes, grupos informadores, y ligandos, donde arilo y heteroarilo pueden estar sustituidos opcionalmente, y donde dos sustituyentes geminales juntos pueden designar oxo, tioxo, imino, o metileno opcionalmente sustituido, o pueden formar juntos un birradical espiro constituido por una cadena alqueno de 1-5 átomos de carbono que está interrumpida opcionalmente y/o terminada por uno o más heteroátomos/grupos seleccionados de -O-, -S-, y -(NR^N)-, donde R^N se selecciona de hidrógeno y C₁₋₄-alquilo, y donde dos sustituyentes adyacentes (no geminales) pueden designar un enlace adicional que da como resultado un enlace doble; y R^{N*}, cuando está presente y no está implicado en un birradical, se selecciona de hidrógeno y C₁₋₄-alquilo; y sales básicas y sales de adición de ácido de los mismos.

50

55

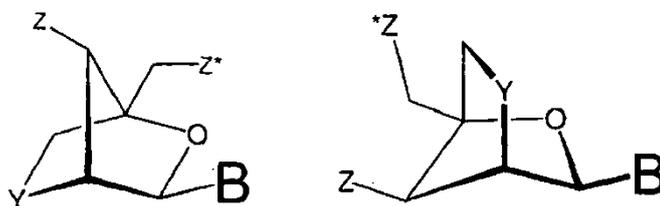
En diversas realizaciones R^{5*} se selecciona de H, -CH₃, -CH₂-CH₃, -CH₂-O-CH₃, y -CH=CH₂. En diversas realizaciones, R^{4*} y R^{2*} designan juntos un birradical seleccionado de -C(R^aR^b)-O-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-O-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-C(R^eR^f)-O-, -C(R^aR^b)-O-C(R^cR^d)-, -C(R^aR^b)-O-C(R^cR^d)-O-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-C(R^eR^f)-, -C(R^a)=C(R^b)-C(R^cR^d)-, -C(R^aR^b)-N(R^c)-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-N(R^e)-, -C(R^aR^b)-N(R^c)-O-, y -C(R^aR^b)-S-, -C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-S-, en donde R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, y R^f se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, C₁₋₂-alquilo opcionalmente sustituido, C₂₋₁₂-alquenoiloxi opcionalmente sustituido, C₂₋₁₂-alquinoiloxi opcionalmente sustituido,

hidroxi, C₁₋₁₂-alcoxi, C₂₋₁₂-alcoxialquilo, C₂₋₁₂-alqueniloxi, carboxi, C₁₋₁₂-alcoxicarbonilo, C₁₋₁₂-alquilcarbonilo, formilo, arilo, ariloxi-carbonilo, ariloxi, arilcarbonilo, heteroarilo, heteroariloxi-carbonilo, heteroariloxi, heteroarilcarbonilo, amino, mono- y di(C₁₋₆-alquil)amino, carbamoilo, mono- y di(C₁₋₆-alquil)-aminocarbonilo, amino-C₁₋₆-alquil-aminocarbonilo, mono- y di(C₁₋₆-alquil)amino-C₁₋₆-alquil-aminocarbonilo, C₁₋₆-alquil-carbonilamino, carbamido, C₁₋₆-alcanoiloxi, sulfono, C₁₋₆-alquilsulfoniloxi, nitro, azido, sulfanilo, C₁₋₆-alquiltio, halógeno, intercaladores de DNA, grupos fotoquímicamente activos, grupos termoquímicamente activos, grupos quelantes, grupos informadores, y ligandos, donde arilo y heteroarilo pueden estar sustituidos opcionalmente y donde dos sustituyentes geminales R^a y R^b juntos pueden designar metileno opcionalmente sustituido (=CH₂).

En una realización adicional, R^{4*} y R^{2*} designan juntos un birradical seleccionado de -CH₂-O-, -CH₂-S-, -CH₂-NH-, -CH₂-N(CH₃)-, -CH₂-CH₂-O-, -CH₂-CH(CH₃)-, -CH₂-CH₂-S-, -CH₂-CH₂-NH-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-O-, -CH₂-CH₂-CH(CH₃)-, -CH=CH-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-O-, -CH₂-NH-O-, -CH₂-N(CH₃)-O-, -CH₂-O-CH₂-, -CH(CH₃)-O-, (CH₂-O-CH₃)-O-.

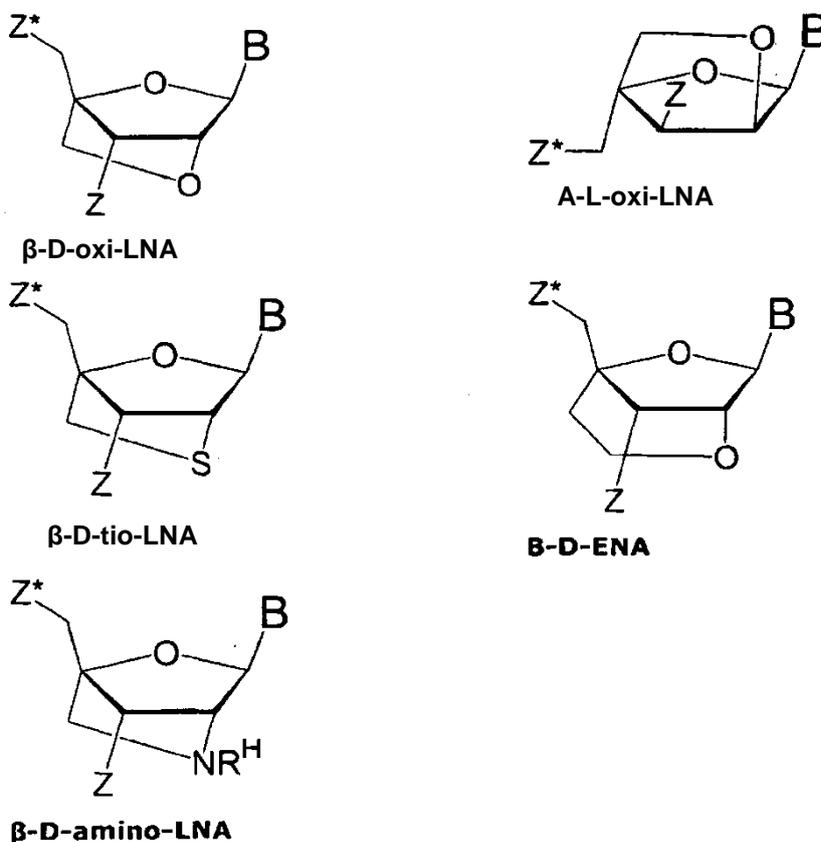
Para todos los centros quirales, los grupos asimétricos pueden encontrarse en configuración R o S.

Preferiblemente, el LNA utilizado en el oligómero de la invención comprende al menos una unidad de LNA de acuerdo con cualquiera de las fórmulas



en donde Y es -O-, -O-CH₂-, -S-, -NH-, o N(R^H); Z y Z* se seleccionan independientemente entre el enlace internucleotídico, un grupo terminal o un grupo protector; B constituye un resto de base nucleotídica natural o no natural, y R^H se selecciona de hidrógeno y C₁₋₄-alquilo.

Unidades de LNA específicamente preferidas se muestran en el Esquema 2:



Esquema 2

El término "tio-LNA" comprende una nucleobase bloqueada (LNA) en la cual Y en la fórmula general anterior se selecciona de S o -CH₂-S-. Tio-LNA puede encontrarse tanto en configuración β-D como en configuración α-L.

5 La expresión "amino-LNA" comprende una nucleobase bloqueada (LNA) en la cual Y en la fórmula general anterior se selecciona de -N(H)-, N(R)-, CH₂-N(H)-, y -CH₂-N(R)-, donde R se selecciona de hidrógeno y C₁₋₄-alquilo. Amino-LNA puede encontrarse tanto en configuración β-D como en configuración α-L.

10 La expresión "oxi-LNA" comprende una nucleobase bloqueada (LNA) en la cual Y en la fórmula general anterior representa -O- o -CH₂-O-. El oxi-LNA puede encontrarse tanto en configuración β-D como en configuración α-L.

El término "ENA" comprende una nucleobase bloqueada (LNA) en la cual Y en la fórmula general anterior es -CH₂-O- (donde el átomo de oxígeno de -CH₂-O- está unido a la posición 2' con relación a la base B).

15 En una realización preferida, LNA se selecciona de β-D-oxi-LNA, α-L-oxi-LNA, β-D-amino-LNA y β-D-tio-LNA, en particular β-D-oxi-LNA.

20 En el presente contexto, la expresión "C₁₋₄-alquilo" tiene por objeto significar una cadena hidrocarbonada saturada lineal o ramificada, en donde la cadena tiene de 1 a 4 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo y terc-butilo.

Reclutamiento de la RNasaH

25 Está reconocido que un compuesto oligómero puede funcionar por la vía de degradación del mRNA diana no mediada por RNasas, tal como por impedimento estérico de la traducción, u otros métodos; sin embargo, los oligómeros preferidos de la invención son capaces de reclutar una endorribonucleasa (RNasa), tal como RNasaH.

30 En diversas realizaciones, dicho oligómero, o secuencia de nucleobases contiguas, comprende una región de al menos 6, tal como al menos 7 unidades de nucleótido o nucleobases consecutivas, tales como al menos 8 o al menos 9 unidades de nucleobases consecutivas (residuos), con inclusión de 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 nucleótidos o nucleobases consecutivas, que, cuando se forman en un dúplex con el RNA diana complementario, son capaces de reclutar RNasa. La secuencia contigua que es capaz de reclutar RNasa puede ser una región B como se hace referencia a la misma en el contexto de un gapmero como se describe en esta memoria. En diversas realizaciones, el tamaño de la secuencia contigua que es capaz de reclutar RNasa, tal como la región B, puede ser mayor, tal como 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20 unidades de nucleobase.

35 EP 1.222.309 proporciona métodos *in vitro* para determinación de la actividad de RNasaH, que pueden utilizarse para determinar la capacidad para reclutar RNasaH. Un oligómero se considera capaz de reclutar RNasaH si, cuando está provisto de la diana de RNA complementaria, tiene una tasa inicial, medida en pmol/l/min de al menos 1%, tal como al menos 5%, tal como al menos 10% o menor que 20% del único oligonucleótido de DNA equivalente, sin sustitución alguna en 2', con grupos de enlace fosforotioato entre todos los nucleótidos del oligonucleótido, utilizando la metodología proporcionada en los Ejemplos 91-95 de EP 1.222.309.

45 En diversas realizaciones, un oligómero se considera esencialmente incapaz de reclutar RNasaH si, cuando está provisto de la diana de RNA complementaria, y RNasaH, la tasa inicial de RNasaH, medida en pmol/l/min, es menor que 1%, tal como menor que 5%, tal como menor que 10% o menor que 20% de la tasa inicial determinada utilizando el único oligonucleótido de DNA equivalente, sin sustitución alguna en 2', con grupos de enlace fosforotioato entre todos los nucleótidos en el oligonucleótido, utilizando la metodología proporcionada en los Ejemplos 91-95 de EP 1.222.309.

50 En otras realizaciones, un oligómero se considera capaz de reclutar RNasaH si, cuando está provisto de la diana de RNA complementaria, y RNasaH, la tasa inicial de RNasaH, medida en pmol/l/min, es al menos 20%, tal como al menos 40%, tal como al menos 60%, tal como al menos 80% de la tasa inicial determinada utilizando el único oligonucleótido de DNA equivalente (es decir que tiene la misma secuencia de bases, pero que contiene solamente unidades de DNA), sin sustitución alguna en 2', con grupos de enlace fosforotioato entre todos los nucleótidos en el oligonucleótido, utilizando la metodología proporcionada en los Ejemplos 91-95 de EP 1.222.309.

60 Típicamente, la región del oligómero que forma la secuencia de nucleobases consecutiva, cuando está formada en un dúplex con el DNA diana complementario, es capaz de reclutar RNasa constituida por unidades de nucleótidos que forman un dúplex de tipo DNA/RNA con el RNA diana - y puede incluir tanto unidades de DNA como unidades de LNA que se encuentran en la configuración α-L, siendo particularmente preferido α-L-oxi-LNA.

El oligómero de la invención puede comprender una secuencia de nucleobases que comprende tanto nucleótidos como análogos de nucleótidos, y puede encontrarse en la forma de un gapmero, un headmero o un mixmero.

Un headmero está definido por un tramo contiguo de análogos de nucleótido que no reclutan RNAsas en el extremo 5' seguido por un tramo contiguo de DNA o unidades de nucleótido modificadas (análogos) reconocibles y escindibles por la RNasa hacia el extremo 3' (tal como al menos 7 nucleótidos de este tipo), y un tailmero está definido por un tramo contiguo de DNA o nucleótidos modificados (análogos) reconocibles y escindibles por la RNasa en el extremo 5' (tal como al menos 7 de tales nucleótidos), seguido por un tramo contiguo de análogos de nucleótidos que no reclutan RNAsas hacia el extremo 3'. Otros oligómeros "quiméricos" de acuerdo con la invención, denominados "mixmero" consisten en una composición alternativa i) DNA o nucleótidos modificados reconocibles y escindibles por la RNasa y ii) análogos de nucleótidos que no reclutan RNasa. Algunos análogos de nucleótidos pueden ser capaces también de mediar la fijación y escisión por las RNAsas, tales como la RNasaH. Dado que α -L-LNA recluta actividad de RNasa en cierto grado, podrían requerirse regiones más pequeñas (v.g. lagunas - o región B) de DNA o nucleótidos modificados reconocibles y escindibles por la RNasa para el constructo gapmero, y podría introducirse más flexibilidad en la construcción del mixmero.

Diseño del gapmero

Preferiblemente, el oligómero de la invención es un gapmero. Un oligómero gapmero es un oligómero que comprende un tramo contiguo de nucleótidos o nucleobases que es capaz de reclutar una RNasa, tal como RNasa H, tal como una región de al menos 6 ó 7 nucleótidos de DNA, a la que se hace referencia en esta memoria como región B, en donde la región B está flanqueada tanto en 5' como en 3' por regiones de análogos de nucleótido, tales como análogos de nucleótido intensificadores de la afinidad, tal como entre 1 y 6 análogos de nucleótido en posición 5' y 3' respecto al tramo contiguo de nucleótidos que es capaz de reclutar RNasa - haciéndose referencia a estas regiones como regiones A y C respectivamente.

Preferiblemente, el gapmero comprende una secuencia de (poli)nucleótidos de fórmula (5' a 3'), A-B-C, u opcionalmente A-B-C-D o D-A-B-C, en donde: la región A (región 5') consiste en o comprende al menos un análogo de nucleótido, tal como al menos una unidad LNA, tal como entre 1-6 análogos de nucleótido, tales como unidades LNA, y; la región B consiste en o comprende al menos 5 nucleótidos o nucleobases consecutivos que son capaces de reclutar RNasa (cuando se forman en un dúplex con una molécula de RNA complementario, tal como el mRNA diana), tales como nucleótidos de DNA, y; la región C (región 3') consiste o consiste en al menos un análogo de nucleótido, tal como al menos una unidad LNA, tal como entre 1 y 6 análogos de nucleótidos, tales como unidades LNA, y; la región D, cuando está presente, consiste en o comprende 1, 2 ó 3 unidades de nucleótido, tales como nucleótidos de DNA.

En diversas realizaciones, la región A consiste en 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 análogos de nucleótido, tales como unidades de LNA, tal como entre 2 y 5 análogos de nucleótido, tal como 2,5 unidades de LNA, tales como 3 ó 4 análogos de nucleótido, tal como 3 ó 4 unidades de LNA; y/o la región C consiste en 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 análogos de nucleótido, tales como unidades de LNA, tal como entre 2- 5 análogos de nucleótido, tal como 2-5 unidades de LNA, tal como 3 ó 4 análogos de nucleótido, tal como 3 ó 4 unidades de LNA.

En diversas realizaciones, B consiste en o comprende 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ó 12 nucleótidos o nucleobases consecutivos que son capaces de reclutar RNasa, o entre 6-10, o entre 7-9, tales como 8 nucleótidos o nucleobases consecutivos(as) que son capaces de reclutar RNasa. En diversas realizaciones, la región B consiste en o comprende al menos una unidad de nucleótido de DNA, tal como 1-12 unidades de DNA, preferiblemente entre 4 y 14 unidades de DNA, más preferiblemente entre 6 y 10 unidades de DNA, tal como entre 7 y 10 unidades de DNA, y muy preferiblemente 8, 9 ó 10 unidades de DNA.

En diversas realizaciones, la región A consiste en 3 ó 4 análogos de nucleótido, tales como LNA, la región B consiste en 7, 8, 9 ó 10 unidades de DNA, y la región C consiste en 3 ó 4 análogos de nucleótido, tales como LNA. Tales diseños incluyen (A-B-C) 3-10-3, 3-10-4, 4-10-3, 3-9-3, 3-9-4, 4-9-3, 3-8-3, 3-8-4, 4-8-3, 3-7-3, 3-7-4, 4-7-3, y pueden incluir adicionalmente la región D, que puede tener 1 ó 2 unidades de nucleótido, tales como unidades de DNA.

Diseños gapmero adicionales se dan a conocer en WO 2004/046160. La solicitud provisional US, 60/977.409, se refiere a oligómeros gapmero 'shortmero' que, en diversas realizaciones pueden ser el oligómero gapmero de acuerdo con la presente invención.

En diversas realizaciones, el oligómero consiste en una secuencia de nucleobases contiguas de un total de 10, 11, 12, 13 ó 14 unidades de nucleobase, en donde la secuencia de nucleobases contiguas es de la fórmula (5'-3'), A-B-C, u opcionalmente A-B-C-D o D-A-B-C, en donde: A consiste en 1, 2 ó 3 unidades análogas de nucleótido, tales como unidades de LNA; B consiste en 7, 8 ó 9 unidades de nucleótido o nucleobases contiguas que son capaces de reclutar RNasa cuando se encuentran en forma de dúplex con una molécula de RNA complementario (tal como un mRNA diana); y C consiste en 1, 2 ó 3 unidades análogas de nucleótido, tales como unidades de LNA. Cuando está presente, D consiste en una sola unidad de DNA.

En diversas realizaciones, A consiste en 1 unidad de LNA. En diversas realizaciones, A consiste en dos unidades de LNA. En diversas realizaciones, A consiste en tres unidades de LNA. En diversas realizaciones, C consiste en 1 unidad de DNA. En diversas realizaciones, C consiste en 2 unidades de LNA. En diversas realizaciones, C consiste en 3 unidades de LNA. En diversas realizaciones, B consiste en 7 unidades de nucleótido. En diversas realizaciones, B consiste en 8 unidades de nucleótido. En diversas realizaciones, B consiste en 9 unidades de nucleótido. En diversas realizaciones, B comprende entre 1 y 9 unidades de DNA, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7 ó 8 unidades de DNA. En diversas realizaciones, B consiste en unidades de DNA. En diversas realizaciones, B comprende al menos una unidad de LNA que está en la configuración α -L, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ó 9 unidades de LNA en la configuración α -L. En diversas realizaciones, B comprende al menos una unidad de α -L-oxi-LNA, o en donde todas las unidades de LNA en la configuración α -L son unidades de LNA α -L-oxi-LNA. En diversas realizaciones, el número de nucleótidos presentes en A-B-C se seleccionan del grupo constituido por (unidades análogas de nucleótido - región B - unidades análogas de nucleótido): 1-8-1, 1-8-2, 2-8-1, 2-8-2, 3-8-3, 2-8-3, 3-8-2, 4-8-1, 4-8-2, 1-8-4, 2-8-4, o; 1-9-1, 1-9-2, 2-9-1, 2-9-2, 2-9-3, 3-9-2, 1-9-3, 3-9-1, 4-9-1, 1-9-4; o; 1-10-1, 1-10-2, 2-10-1, 2-10-2, 1-10-3, 3-10-1. En diversas realizaciones, el número de nucleótidos en A-B-C se seleccionan del grupo constituido por: 2-7-1, 1-7-2, 2-7-2, 3-7-3, 2-7-3, 3-7-2, 3-7-4, y 4-7-3. En diversas realizaciones, tanto A como C están constituidas por dos unidades de LNA cada uno, y B consiste en 8 ó 9 unidades de nucleótido, preferiblemente unidades de DNA.

Otros diseños de gapmero incluyen aquéllos en que la región A y/o C consiste en 3, 4, 5 ó 6 análogos de nucleótido, tales como los análogos de nucleótido seleccionados del grupo constituido por 2'-O-metoxietil-LNA (2'MOE) y monómeros 2'-fluoro-DNA, y la región B consiste en 8, 9, 10, 11 ó 12 nucleótidos, tales como unidades de DNA (o nucleobases, tales como los diseños gapmero 5-10-5 y 4-12-4. Diseños de gapmero s adicionales se describen en WO 2007/146511A2.

Grupos de enlace

Las expresiones "grupo de enlace" o "enlace internucleotídico" tienen por objeto significar un grupo capaz de acoplar covalentemente uno a otro dos nucleótidos o nucleobases, dos análogos de nucleótido, y un nucleótido y un análogo de nucleótido, etc. Ejemplos específicos y preferidos incluyen grupos fosfato y grupos fosforotioato.

Las nucleobases del oligómero de la invención o secuencia de nucleobases contiguas del mismo están acopladas unas a otras por grupos de enlace. Convenientemente, cada nucleobase está enlazada a la nucleobase 3' adyacente por un grupo de enlace.

Grupos de enlace adecuados incluyen los enumerados en WO 2007/031091, por ejemplo los grupos de enlace enumerados en el primer párrafo de la página 34 de WO 2007/031091.

En diversas realizaciones, es preferible modificar el grupo de enlace con respecto a su fosfodiéster normal en uno que es más resistente al ataque de las nucleasas, tal como fosforotioato o boranofosfato - siendo estos dos escindibles por la RNasaH, permiten también dicha ruta de inhibición antisentido en la reducción de la expresión del gen diana.

Pueden preferirse grupos de enlace adecuados que contienen azufre (S) tales como se proporcionan en esta memoria. Se prefieren también los grupos de enlace fosforotioato, particularmente para la región gap (B) de los gapmero s. Pueden utilizarse también enlaces fosforotioato para las regiones flanqueantes (A y C, y para enlazar A o C a D, y dentro de la región D según los casos.

Las regiones A, B y C pueden comprender sin embargo grupos de enlace distintos de fosforotioato, tales como enlaces fosfodiéster, particularmente, por ejemplo cuando el uso de análogos de nucleótido protege los grupos de enlace dentro de las regiones A y C contra la degradación por las endonucleasas - tal como cuando las regiones A y C comprenden nucleótidos de LNA.

Los grupos de enlace en el oligómero pueden ser fosfodiéster, fosforotioato o boranofosfato a fin de permitir la escisión por la RNasaH del RNA diana. Se prefiere fosforotioato, por resistencia mejorada a las nucleasas y otras razones, tales como la facilidad de fabricación.

En un aspecto del oligómero de la invención, los nucleótidos y/o análogos de nucleótidos están enlazados unos a otros por medio de grupos fosforotioato.

Se ha reconocido que la inclusión de enlaces fosfodiéster, tales como uno o dos enlaces, en un oligómero que por lo demás es fosforotioato, particularmente entre o adyacente a unidades análogas de nucleótido (típicamente en la región A y/o C) puede modificar la biodisponibilidad y/o biodistribución de un oligómero - véase WO 2008/053314.

En algunas realizaciones, tales como las realizaciones a que se ha hecho referencia anteriormente, donde es adecuado y no se indica específicamente, todos los grupos de enlace restantes son fosfodiéster o fosforotioato, o una mezcla de los mismos.

5 En algunas realizaciones, todos los grupos de enlace internucleotídicos son fosforotioato.

Cuando se hace referencia a secuencias de oligonucleótido gapmero específicas, tales como las proporcionadas en esta memoria, se entenderá que, en diversas realizaciones, cuando los enlaces son enlaces fosforotioato, pueden utilizarse enlaces alternativos, tales como los expuestos en esta memoria, pudiendo utilizarse por ejemplo enlaces fosfato (fosfodiéster), particularmente para enlaces entre análogos de nucleótido, tales como unidades LNA. Análogamente, cuando se hace referencia a secuencias de oligonucleótido gapmero específicas, tales como las proporcionadas en esta memoria, cuando los residuos C están indicados como citosina modificada con 5' metilo, en diversas realizaciones, uno o más de los Cs presentes en el oligómero pueden ser residuos C no modificados.

15 **Compuestos Oligómeros**

Los oligómeros de la invención pueden seleccionarse del grupo constituido por: SEQ ID NO 133-152, como se muestra en la Tabla 2.

20 **Tabla 2:** Diseños de oligómeros SEQ ID NOS: 133-152. Las letras mayúsculas indican unidades análogas de nucleótido y el subíndice "s" representa el enlace fosforotioato. Las letras minúsculas representan unidades de nucleótido (DNA). La ausencia de "s" (en su caso) indica un enlace fosfodiéster.

Tabla 2 - Diseños de oligómeros		
SEQ ID NO	Secuencia (5'-3')	Longitud (bases)
SEQ ID NO: 133	G_sA_sA_sA_sg_sC_st_sg_sa_st_sg_sg_sa_sC_sC_sA	16
SEQ ID NO: 134	C_sA_sG_sA_sC_st_st_sa_sa_sa_sg_sa_st_sG_sG_sC	16
SEQ ID NO: 135	C_sA_sG_sa_sa_st_sC_sC_sa_sC_st_sg_sg_sT_sG_sA	16
SEQ ID NO: 136	G_sC_sA_sC_st_sg_sC_sC_sa_st_st_st_sA_sG_sC	16
SEQ ID NO: 137	G_sT_sA_sa_st_sa_sg_sC_sC_sa_sa_sg_sA_sT_sT	16
SEQ ID NO: 138	A_sC_sT_sC_st_sg_sC_st_st_sg_st_sg_sT_sC_sC	16
SEQ ID NO: 139	C_sC_sA_sC_sC_sa_sg_sC_st_sC_st_sa_sC_sA_sA	16
SEQ ID NO: 140	G_sA_sG_st_sC_sC_sa_sa_sa_sg_sA_sC_sa_sG_sT_sT	16
SEQ ID NO: 141	A_sC_sC_sC_sa_sC_st_st_sg_sg_sC_sa_sg_sA_sC_sC	16
SEQ ID NO: 142	G_sC_sA_sC_sa_sa_sa_sC_sa_sa_st_sg_sg_sA_sA_sT	16
SEQ ID NO: 143	G_sC_sA_sg_sC_st_sa_sC_st_sC_st_st_sG_sG_sA	16
SEQ ID NO: 144	C_sT_sC_sC_sC_st_sC_sa_sg_sC_st_sC_sA_sA_sT	16
SEQ ID NO: 145	G_sC_sA_sg_st_sC_st_sC_sa_st_sC_sC_sA_sA_sG	16
SEQ ID NO: 146	T_sA_sT_sC_sC_sa_sC_sC_sa_sg_sa_sg_sT_sG_sA_sA	16
SEQ ID NO: 147	C_sA_sT_sC_sC_sa_st_sg_sa_sg_sT_sC_sC_sT_sG	16
SEQ ID NO: 148	C_sC_sA_st_sC_st_sg_st_sg_sa_st_sC_sA_sT	16
SEQ ID NO: 149	A_sA_sG_sC_sa_sa_sg_sC_sa_sa_sa_sg_sC_sA_sG	16
SEQ ID NO: 150	G_sA_sA_sa_st_st_sg_sC_st_sg_sa_sg_sC_sA_sG	16
SEQ ID NO: 151	G_sT_sG_st_st_sa_sC_sa_sC_sC_sA_sT_sA	16
SEQ ID NO: 152	A_sA_sC_sa_st_sg_sa_sa_sa_st_sa_sg_sT_sC_sC	16

Conjugados

25 En el contexto, el término "conjugado" tiene por objeto indicar una molécula heterogénea formada por la unión covalente ("conjugación") del oligómero como se describe en esta memoria a uno más restos no- nucleótido/no-análogo de nucleótido (es decir no-nucleobase) o no-polinucleótido. Ejemplos de los restos no-nucleótido o no-polinucleótido incluyen agentes macromoleculares tales como proteínas, cadenas de ácidos grasos, residuos de

azúcar, glicoproteínas, polímeros, o combinaciones de los mismos. Las proteínas típicas pueden ser anticuerpos para una proteína diana. Los oligómeros típicos pueden ser polietilenglicol.

5 Por consiguiente, en diversas realizaciones, el oligómero de la invención puede comprender a la vez una región de polinucleótido, es decir una región nucleótido/nucleobase, que está constituida típicamente por una secuencia contigua de nucleobases, y una región adicional no nucleotídica. Cuando se hace referencia al oligómero de la invención constituido por una secuencia de nucleobases contigua, el compuesto puede comprender componentes distintos de nucleótidos y distintos de nucleobases, tales como un componente conjugado.

10 En diversas realizaciones de la invención, el compuesto oligómero está enlazado a ligandos/conjugados, que pueden utilizarse, v.g. para aumentar la absorción celular de compuestos oligómeros. WO 2007/031091 proporciona ligandos y conjugados adecuados.

15 La invención proporciona también un conjugado que comprende el compuesto de acuerdo con la invención como se describe en esta memoria, y al menos un resto distinto de nucleótido o distinto de polinucleótido unido covalentemente a dicho compuesto. Por tanto en diversas realizaciones en las que el compuesto de la invención consiste en una secuencia especificada de ácido nucleico o nucleobase, como se describe en esta memoria, el compuesto puede comprender también al menos un resto distinto de nucleótido o distinto de polinucleótido (v.g. que no comprende uno o más nucleótidos o análogos de nucleótidos) unido covalentemente a dicho compuesto.

20 Los conjugados pueden mejorar la actividad, la distribución celular o la absorción celular del oligómero de la invención. Tales restos incluyen, pero sin carácter limitante, anticuerpos, polipéptidos, restos lipídicos tales como un resto colesterol, ácido cólico, un tioéter, v.g. hexil-s-tritilol, un tiocolesterol, una cadena alifática, v.g. dodecanodiol o residuos undecilo, un fosfolípido, v.g. di-hexadecil-rac-glicerol o 1,2-di-o-hexadecil-rac-glicero-3-H-fosfonato de trietilamonio, una poliamina o una cadena de polietilenglicol, un ácido adamantano-acético, un resto palmitilo, un resto octadecilamina o hexilamino-carbonil-oxicolesterol.

25 Los oligómeros de la invención pueden conjugarse también a sustancias fármaco activas, por ejemplo, aspirina, ibuprofeno, un fármaco sulfa, un antidiabético, un antibacteriano o un antibiótico.

30 En ciertas realizaciones, el resto conjugado es un esteroles, tal como colesterol.

35 En diversas realizaciones, el resto conjugado comprende o consiste en un polímero cargado positivamente, tal como péptidos cargados positivamente de, por ejemplo, entre 1 y 50, tales como de 2 a 20, tal como de 3 a 10 residuos de aminoácido de longitud, y/o un óxido de polialquileno tal como polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol - véase WO 2008/034123. Convenientemente, el polímero con carga positiva, tal como un poli(óxido de alquileo) puede estar unido al oligómero de la invención por un enlazador tal como el enlazador separable descrito en WO 2008/034123.

Oligómeros activados

40 La expresión "oligómero activado", como se utiliza en esta memoria, se refiere a un oligómero de la invención que está enlazado covalentemente (es decir, funcionalizado) a al menos un resto funcional que permite el enlace covalente del oligómero a uno o más restos conjugados, es decir, restos que no son en sí mismos ácidos nucleicos o monómeros, para formar los conjugados descritos en esta memoria. Típicamente, un resto funcional comprenderá un grupo químico que es capaz de unirse covalentemente al oligómero por la vía, v.g. de un grupo 3'-hidroxilo o el grupo exocíclico NH₂ de la base adenina, un espaciador que es preferiblemente hidrófilo y un grupo terminal que es capaz de fijarse a un resto conjugado (v.g., un grupo amino, sulfhidrilo o hidroxilo). En algunas realizaciones, este grupo terminal no está protegido, v.g., es un grupo NH₂. En otras realizaciones, el grupo terminal está protegido, por ejemplo, por cualquier grupo protector adecuado tal como los descritos en "Protective Groups in Organic Synthesis" por Theodora W. Greene y Peter G.M. Wuts, 3ª edición (John Wiley & Sons, 1999). Ejemplos de grupos protectores de hidroxilo adecuados incluyen ésteres tales como éster acetato, grupos aralquilo tales como bencilo, difenilmetilo, o trifenilmetilo, y tetrahidropiranilo. Ejemplos de grupos protectores de amino adecuados incluyen bencilo, difenilmetilo, o trifenilmetilo, y tetrahidropiranilo. Ejemplos de grupos protectores de amino adecuados incluyen bencilo, α-metilbencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, benciloxicarbonilo, terc-butoxicarbonilo, y grupos acilo tales como tricloroacetilo o trifluoroacetilo. En algunas realizaciones, el resto funcional es autoescindible. En otras realizaciones, el resto funcional es biodegradable. Véase, v.g., la Patente U.S. No. 7.087.229.

60 En algunas realizaciones, los oligómeros de la invención están funcionalizados en el extremo 5' a fin de permitir la unión covalente del resto conjugado al extremo 5' del oligómero. En otras realizaciones, los oligómeros de la invención pueden estar funcionalizados en el extremo 3'. En todavía otras realizaciones, los oligómeros de la invención pueden estar funcionalizados a lo largo de la cadena principal o en el resto de la base heterocíclica. En otras realizaciones adicionales, los oligómeros de la invención pueden estar funcionalizados en más de una posición seleccionada independientemente del extremo 5', el extremo 3', la cadena principal y la base.

En algunas realizaciones, los oligómeros activados de la invención se sintetizan por incorporación durante la síntesis de uno o más monómeros que está(n) unido(s) covalentemente a un resto funcional. En otras realizaciones, los oligómeros activados de la invención se sintetizan con monómeros que no se han funcionalizado, y el oligómero se funcionaliza una vez completada la síntesis. En algunas realizaciones, los oligómeros se funcionalizan con un éster impedido que contiene un enlazador aminoalquilo, en donde la porción alquilo tiene la fórmula $(CH_2)_w$, en donde w es un número entero que va de 1 a 10, con preferencia aproximadamente 6, en donde la porción alquilo del grupo alquilamino puede ser de cadena lineal o de cadena ramificada, y en donde el grupo funcional está unido al oligómero por un grupo éster $(-O-C(O)-(CH_2)_wNH)$.

En otras realizaciones, los oligómeros están funcionalizados con un éster impedido que contiene un enlazador $(CH_2)_w$ -sulfhidrido (SH), en donde w es un número entero que va de 1 a 10, con preferencia aproximadamente 6, en donde la porción alquilo del grupo alquilamino puede ser de cadena lineal o de cadena ramificada, y en donde el grupo funcional está unido al oligómero por un grupo éster $(-O-C(O)-(CH_2)_wSH)$.

En algunas realizaciones, los oligómeros activados con sulfhidrido están conjugados con restos polímeros tales como polietilenglicol o péptidos (por formación de un enlace disulfuro).

Los oligómeros activados que contienen ésteres impedidos como se ha descrito arriba pueden sintetizarse por cualquier método conocido en la técnica, y en particular por los métodos descritos en la publicación PCT No. WO 2008/034122 y los ejemplos que aparecen en ella.

En otras realizaciones adicionales, los oligómeros de la invención están funcionalizados por introducción de grupos sulfhidrido, amino o hidroxilo en el oligómero por medio de un agente de funcionalización sustancialmente como se describe en las Patentes U.S. Nos. 4.962.029 y 4.914.210, es decir, un reactivo sustancialmente lineal que tiene un fosforamidito en un extremo enlazado a través de una cadena espaciadora hidrófila al extremo opuesto que comprende un grupo sulfhidrido, amino o hidroxilo protegido o no protegido. Tales reactivos reaccionan en primer lugar con los grupos hidroxilo del oligómero. En algunas realizaciones, tales oligómeros activados tienen un reactivo de funcionalización acoplado a un grupo 5'-hidroxilo del oligómero. En otras realizaciones, los oligómeros activados tienen un reactivo de funcionalización acoplado a un grupo 3'-hidroxilo. En otras realizaciones adicionales, los oligómeros activados de la invención tienen un reactivo de funcionalización acoplado a un grupo hidroxilo en la cadena principal del oligómero. En otras realizaciones adicionales, el oligómero de la invención está funcionalizado con más de uno de los reactivos de funcionalización que se describen en las Patentes U.S. Nos. 4.962.029 y 4.914.210. Métodos de síntesis de tales reactivos de funcionalización e incorporación de los mismos en monómeros u oligómeros se dan a conocer en las Patentes U.S. Nos. 4.962.029 y 4.914.210.

En algunas realizaciones, el término 5' de un oligómero unido en fase sólida está funcionalizado con un derivado de dienil-fosforamidito, seguido por conjugación del oligómero desprotegido con, v.g. un aminoácido o péptido por una reacción de cicloadición Diels-Alder.

En diversas realizaciones, la incorporación de monómeros que contienen modificaciones azúcar en 2', tales como un azúcar sustituido con 2'-carbamato o un azúcar 2'-(O-pentil-N-ftalimido)-desoxirribosa en el oligómero facilita la unión covalente de restos conjugados a los azúcares del oligómero. En otras realizaciones, un oligómero con un enlazador que contiene amino en la posición 2' de uno o más monómeros se prepara utilizando un reactivo tal como, por ejemplo, 5'-dimetoxitritil-2'-O-(e-ftalimidilaminopentil)-2'-desoxiadenosina-3'-N,N-diisopropil-cianoetoxi-fosforamidito. Véase, v.g., Manoharan, et al., Tetrahedron Letters, 1991, 34, 7171.

En otras realizaciones adicionales, los oligómeros de la invención pueden tener restos funcionales que contienen amina en la nucleobase con inclusión de grupos amino N6 de la purina, o en el N2 exocíclico de la guanina, o en las posiciones N4 ó 5 de la citosina. En una realización, dicha funcionalización puede conseguirse utilizando un reactivo convencional que está ya funcionalizado en la síntesis del oligómero.

Algunos restos funcionales están disponibles comercialmente; por ejemplo, restos enlazadores heterobifuncionales y homobifuncionales están disponibles de Pierce Co. (Rockford, Ill.). Otros grupos enlazadores disponibles comercialmente son los reactivos 5'-Amino-Modifier C6 y 3'-Amino-Modifier, disponibles ambos de Glen Research Corporation (Sterling, Va.). El reactivo 5'-Amino-Modifier C6 está disponible también de ABI (Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.) como Aminolink-2, y 3'-Amino-Modifier está disponible también de Clontech Laboratories Inc. (Palo Alto, Calif.).

Composiciones

El oligómero de la invención puede utilizarse en formulaciones y composiciones farmacéuticas. Convenientemente, tales composiciones comprenden un diluyente, portador, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable. WO 2007/031091 proporciona diluyentes, portadores y adyuvantes adecuados y preferidos farmacéuticamente aceptables. Dosis, formulaciones, rutas de administración, composiciones, forma de dosificación, combinaciones con

otros agentes terapéuticos, y formulaciones de pro-fármaco adecuadas se proporcionan también en WO 2007/031091.

5 Como se utiliza en esta memoria, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que retienen la actividad biológica deseada de los compuestos identificados en esta memoria y exhiben efectos toxicológicos indeseables mínimos. Ejemplos no limitantes de dichas sales pueden formarse con sales de adición de aminoácidos y bases orgánicas(as) formadas con cationes metálicos tales como cinc, calcio, bismuto, bario, magnesio, aluminio, cobre, cobalto, níquel, cadmio, sodio, potasio, y análogos, o con un catión formado a partir de amoníaco, *N,N*-dibenciletileno-diamina, D-glucosamina, tetraetilamonio, o etilendiamina; o (c) combinaciones de (a) y (b); v.g., una sal tanato de cinc o análogos.

Aplicaciones

15 Los oligómeros de la invención pueden utilizarse como reactivos de investigación para, por ejemplo, diagnósticos, terapéutica y profilaxis.

20 En investigación, tales oligómeros pueden utilizarse para inhibir específicamente la expresión o la síntesis de la proteína β -catenina (típicamente por degradación o inhibición del mRNA y prevención con ello de la formación de la proteína) en células y animales experimentales, facilitando así el análisis funcional de la diana o una apreciación de su utilidad como diana para interacción terapéutica.

En diagnóstico, los oligómeros pueden utilizarse para detectar y cuantificar la expresión de β -catenina en células y tejidos por transferencia Northern, hibridación in-situ o técnicas similares.

25 Para terapéutica, un animal o un humano, que se sospecha padece una enfermedad o trastorno que puede ser tratado por modulación de la expresión de β -catenina se trata por administración de compuestos oligómeros, tal como una cantidad eficaz de un oligómero (o conjugado del mismo) de acuerdo con esta invención. Se proporcionan adicionalmente métodos de tratamiento de un mamífero, tal como el tratamiento de un humano, que se sospecha padece o es propenso a padecer una enfermedad o afección asociada con la expresión de β -catenina, por 30 administración de una cantidad terapéutica o profiláctica activa de uno o más oligómeros o composiciones de la invención.

35 La invención proporciona también el uso de los compuestos o conjugados de la invención como se describe para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno como los arriba mencionados, o para un método de tratamiento de un trastorno como los mencionados en esta memoria.

40 La invención se refiere también a un oligómero, una composición o un conjugado como los descritos en esta memoria, para uso como medicamento. Convenientemente, cuando se hace referencia a los métodos de la invención, la administración del oligómero o conjugado de la invención se realiza por administración de una cantidad eficaz del oligómero o conjugado, v.g. una cantidad que es eficaz para proporcionar tratamiento o una cantidad que es eficaz para inhibir o regular en sentido decreciente la expresión de β -catenina en una célula o células.

45 La invención proporciona también un método para el tratamiento de un trastorno como los mencionados en esta memoria, comprendiendo dicho método administrar un compuesto de acuerdo con la invención como se describe en esta memoria, y/o un conjugado de acuerdo con la invención, y/o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención a un paciente que se encuentra en necesidad de ello.

50 En diversas realizaciones, el oligómero, o conjugado del mismo, induce un efecto terapéutico deseado en humanos mediante por ejemplo fijación por enlaces de hidrógeno a un ácido nucleico diana. El oligómero, o conjugado del mismo, causa una disminución (inhibición) en la expresión de una diana por enlaces de hidrógeno (hibridación) al mRNA de la diana dado así como resultado una reducción en la expresión del gen. Se contempla también que los compuestos oligoméricos y conjugados descritos en esta memoria pueden tener aplicaciones no terapéuticas, tales como aplicaciones de diagnóstico.

Indicaciones médicas

60 El trastorno, como se hace referencia al mismo en esta memoria, se selecciona en diversas realizaciones del grupo constituido por un trastorno hiperproliferativo, tal como cáncer, tal como un cáncer seleccionado del grupo constituido por cáncer colorrectal, cáncer hepatocelular, cáncer endometrial, melanoma maligno, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de hipófisis, cáncer esofágico, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de riñón, cáncer del sistema hematopoyético, cáncer cervical, cáncer del CNS, cáncer óseo, cáncer del tracto biliar y cáncer de las glándulas suprarrenales.

En diversas realizaciones, el trastorno, como se hace referencia al mismo en esta memoria, es un cáncer seleccionado del grupo constituido por cáncer colorrectal, cáncer hepatocelular, cáncer endometrial y melanoma maligno.

- 5 En diversas realizaciones, el trastorno, como se hace referencia al mismo esta memoria, es un cáncer seleccionado del grupo constituido por cáncer hepático y cáncer renal.

Los oligómeros y otras composiciones de acuerdo con la invención pueden utilizarse para el tratamiento de afecciones asociadas con la sobre-expresión o expresión de una versión mutada de la β -catenina.

- 10 La invención proporciona adicionalmente el uso de un compuesto de la invención en la preparación o fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección como se hace referencia al mismo en esta memoria.

- 15 La invención se refiere adicionalmente al uso de un compuesto, composición o un conjugado como se define en esta memoria para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de niveles anormales de β -catenina o la expresión de formas mutantes de β -catenina (tales como variantes alélicas, tales como las asociadas con una de las enfermedades a que se hace referencia en esta memoria).

- 20 Un aspecto de la invención está dirigido a un método de tratamiento de un mamífero que padece o es propenso a afecciones asociadas con niveles anormales de β -catenina, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un oligómero direccionado a β -catenina, tal como un oligómero que comprende una o más unidades LNA. Los métodos de la invención pueden emplearse por tanto para el tratamiento o la profilaxis contra enfermedades causadas por niveles anormales de β -catenina. Dicho de otro modo, en diversas realizaciones,
25 la invención está dirigida adicionalmente a un método para tratamiento de niveles anormales de β -catenina, comprendiendo dicho método administrar un oligómero de la invención, o un conjugado de la invención, o una composición farmacéutica de la invención a un paciente que se encuentra en necesidad de ello.

- 30 La enfermedad o trastorno, al que se hace referencia en esta memoria, puede, en diversas realizaciones, asociarse con una mutación en el gen de β -catenina o un gen cuyo producto proteínico está asociado con o interacciona con β -catenina. Por tanto, en diversas realizaciones, el mRNA diana es una forma mutada de la secuencia de β -catenina.

- 35 Un aspecto interesante de la invención está dirigido al uso de un oligómero (compuesto) como se define en esta memoria o un conjugado como se define en esta memoria para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección como se hace referencia al mismo en esta memoria.

La invención se refiere también a un oligómero, una composición o un conjugado como se define en esta memoria para uso como medicamento.

- 40 Además, la invención se refiere a un método de tratamiento de un individuo que padece una enfermedad o afección tal como las mencionadas en esta memoria, comprendiendo dicho método administrar un compuesto de acuerdo con la invención como se define en esta memoria, y/o un conjugado de acuerdo con la invención, y/o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención a un paciente que se encuentra en necesidad de ello,

- 45 Dosis, formulaciones, rutas de administración, composiciones, formas de dosificación, combinaciones con otros agentes terapéuticos, y formulaciones pro-fármaco adecuadas se proporcionan también en WO 2007/031091.

- 50 La invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende un compuesto o un conjugado como se describe en esta memoria o un conjugado, y un diluyente, portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable. WO 2007/031091 proporciona diluyentes, portadores y adyuvantes farmacéuticamente aceptables adecuados y preferidos.

- 55 Los métodos de la invención se emplean preferiblemente para el tratamiento o la profilaxis contra enfermedades causadas por niveles anormales de β -catenina.

- Adicionalmente, la invención descrita en esta memoria abarca un método de prevención o tratamiento de una enfermedad que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un oligómero modulador de β -catenina a un humano que se encuentra en necesidad de dicha terapia. La invención abarca además el uso de un corto periodo de administración de un compuesto oligonucleotídico modulador de β -catenina (oligómero o conjugado).

- 60 Dicho de otro modo, en diversas realizaciones, la invención está dirigida adicionalmente a un método de tratamiento de niveles anormales de β -catenina, comprendiendo dicho método administrar un oligómero de la invención, o un conjugado de la invención o una composición farmacéutica de la invención a un paciente que se encuentra en necesidad de ello, y que comprende adicionalmente la administración de un agente adicional o ingrediente activo

adicional. Dicha administración adicional puede ser tal que el agente adicional o ingrediente activo adicional está conjugado con el compuesto de la invención, está presente en la composición farmacéutica, o se administra en una formulación separada.

5 La invención se refiere también a un oligómero, una composición o un conjugado como se define en esta memoria para uso como medicamento.

10 La invención se refiere adicionalmente al uso de un compuesto, composición o conjugado como se define en esta memoria para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de niveles anormales de β -catenina o la expresión de formas mutantes de β -catenina (tales como variantes alélicas, tales como las asociadas con una de las enfermedades a que se hace referencia en esta memoria).

15 Además, la invención se refiere a un método de tratamiento de un individuo que padece una enfermedad o afección tal como las mencionadas en esta memoria.

Un paciente que se encuentra en necesidad de tratamiento es un paciente que padece o es propenso a padecer la enfermedad o trastorno.

20 En diversas realizaciones, el término 'tratamiento' como se utiliza en esta memoria, hace referencia al tratamiento de una enfermedad existente (v.g. una enfermedad o trastorno como los mencionados en esta memoria), y/o a la prevención de una enfermedad, es decir la profilaxis. Por consiguiente, se reconocerá que el tratamiento a que se hace referencia en esta memoria puede, en diversas realizaciones, ser profiláctico.

25 La enfermedad o trastorno a que se hace referencia en esta memoria, puede, en diversas realizaciones, asociarse con una mutación en el gen de β -catenina o un gen cuyo producto proteínico está asociado con o interacciona con β -catenina, tal como el gen APC. Por esta razón, en diversas realizaciones, el mRNA diana es una forma mutada de la secuencia de β -catenina, pudiendo comprender por ejemplo una o más mutaciones en un solo punto, tales como SNPs asociados con cáncer.

30 Ejemplos de tales enfermedades en las que las mutaciones en el gen de β -catenina o APC conducen a niveles anormales de actividad de β -catenina son: (1) cáncer colorrectal, APC y β -catenina están mutados mutuamente en más del 70% de los casos (Powell et al., Nature, 1992, Morin et al., Science, 1997; Sparks et al., Cancer Res., 1998); (2) cáncer hepatocelular, las β -cateninas están mutadas en más del 25% de los casos (de La Coste A, PNAS, 1998); (3) cáncer endometrial, las β -cateninas están mutadas > 10%; y (4) melanoma maligno, las β -cateninas están mutadas en > 10% (Rubinfeld et al., Science, 1997).

40 Ejemplos adicionales de tales enfermedades son cáncer de ovario, páncreas, hipófisis, esófago, pulmón, mama, riñón, sistema hematopoyético, cervix, CNS, hueso, tracto biliar y glándula suprarrenal. Se ha demostrado que mutaciones en el gen de β -catenina o APC están asociadas con estas enfermedades (Catálogo de Mutaciones Somáticas en el Cáncer, disponible del Instituto Sanger (Reino Unido), página digital <http://www.sanger.ac.uk/>).

El cáncer al que se hace referencia de acuerdo con la invención, puede seleccionarse de una de las formas de cáncer arriba mencionadas.

45 **Realizaciones adicionales**

Las realizaciones que siguen se refieren también a la descripción y sumario de la invención, y pueden combinarse con las realizaciones de la invención a que se hace referencia en esta memoria, incluyendo la realización a la que se hace referencia en las reivindicaciones:

50 1. Un oligonucleótido antisentido (tal como el oligómero) capaz de fijarse a una secuencia diana del gen de β -catenina de SEQ ID NO: 173 o alelo del mismo y regular en sentido decreciente la expresión de β -catenina, comprendiendo dicho oligonucleótido una secuencia de 10-50 nucleobases correspondientes a la secuencia diana.

55 2. El oligonucleótido antisentido de la realización 1, en donde la secuencia diana se selecciona de regiones del gen de β -catenina representadas por SEQ ID NOS: 1-32 o una variante alélica de las mismas.

60 3. El oligonucleótido de la realización 1 o la realización 2 que comprende una secuencia de 10-16 nucleobases representadas en SEQ ID NOS: 1, 16, 17, 18, 33, 34, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 73, 88, 103, y 118 o una variante alélica de la misma.

4. El oligonucleótido de una cualquiera de las realizaciones 1-3, que comprende secuencias que se muestran como SEQ ID NOS: 1-132.

5. El oligonucleótido de una cualquiera de las realizaciones anteriores representado por SEQ ID NOS: 133-172.
- 5 6. El oligonucleótido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en el que dicha secuencia de nucleobases comprende enlaces internucleobase seleccionados independientemente de fosfodiéster, fosforotioato y boranofosfato.
- 10 7. El oligonucleótido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde al menos dos de dichas nucleobases son análogos de nucleótidos.
- 15 8. El oligonucleótido de acuerdo con la realización 5, en donde dicha secuencia de nucleobases comprende, en una dirección 5' a 3' (i) región A: un tramo de 2-4 análogos de nucleótidos, seguido por (ii) región B: un tramo de 6-11 nucleótidos o análogos de nucleótidos diferentes de los de la región A, seguido por (iii) región C; un tramo de 2-4 análogos de nucleótidos, y seguido opcionalmente por (iv) región D: 1 ó 2 nucleótidos.
- 20 9. El oligonucleótido de acuerdo con la realización 8, en donde la región A comprende al menos un enlace fosfodiéster entre dos unidades análogas de nucleótido y/o una unidad análoga de nucleótido y una unidad de nucleobase de la Región B.
- 25 10. El oligonucleótido de acuerdo con la realización 8 o la realización 9, en el que la región C comprende al menos un enlace fosfodiéster entre dos unidades análogas de nucleótido y/o una unidad análoga de nucleótido y una unidad de nucleobase de la Región B.
- 30 11. El oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 6, en donde todos los enlaces internucleobase son fosforotioato.
- 35 12. El oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 7 a 11, en el que dichas unidades análogas de nucleótido se seleccionan independientemente de 2'-O-alkil-RNA, 2'-amino-DNA, 2'-fluoro-DNA, ácido nucleico bloqueado (LNA), ácido arabino-nucleico (ANA), 2'-fluoro-ANA, HNA, INA y 2'-MOE.
- 40 13. El oligonucleótido de acuerdo con la realización 12, en donde los análogos de nucleótido se seleccionan independientemente de 2'-MOE-RNA, 2'-fluoro-DNA, y LNA.
- 45 14. El oligonucleótido de acuerdo con la realización 13, en donde al menos uno de dichos análogos de nucleótido es un ácido nucleico bloqueado (LNA).
- 50 15. El oligonucleótido de acuerdo con la realización 14, en donde todos los análogos nucleotídicos son LNA.
- 55 16. El oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 12 a 15, en donde LNA se selecciona de β -D-oxi-LNA, α -L-oxi-LNA, β -D-amino-LNA y β -D-tio-LNA.
- 60 17. Un conjugado que comprende un oligonucleótido de una cualquiera de las realizaciones anteriores y al menos un resto no nucleotídico o no polinucleotídico unido covalentemente a dicho oligonucleótido.
18. Un conjugado de acuerdo con la realización 17, en donde dicho resto no nucleotídico o no polinucleotídico consiste en o comprende un grupo esteroide tal como colesterol.
19. Una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 16 o un conjugado de acuerdo con la realización 17 o la realización 18, y un diluyente, portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable.
20. Un oligonucleótido o un conjugado de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 18 para uso como medicamento.
21. Uso de un oligonucleótido o un conjugado de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 18 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de niveles anormales de β -catenina o una enfermedad o afección para la cual está indicada la regulación decreciente de la expresión de β -catenina.

22. El uso de acuerdo con la realización 21, en donde dicha enfermedad o afección es cáncer.

23. Un método de tratamiento de un individuo que padece cáncer, comprendiendo el método el paso de administrar una composición farmacéutica, oligonucleótido o conjugado de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 19 al individuo que se encuentra en necesidad de ello.

24. El uso del método de una cualquiera de las realizaciones 21 a 23, en donde el cáncer se selecciona de cáncer colorrectal, cáncer hepatocelular, cáncer endometrial, melanoma maligno, cáncer de ovario, páncreas, hipófisis, esófago, pulmón, mama, riñón, sistema hematopoyético, cérvix, CNS, hueso, tracto biliar y glándula suprarrenal.

25. Una secuencia diana comprendida dentro del gen de β -catenina, en donde un oligonucleótido antisentido correspondiente a dicha secuencia diana es capaz de regular en sentido decreciente la expresión de β -catenina.

26. La secuencia diana de la realización 25, en donde la secuencia diana se selecciona de las regiones del gen de β -catenina complementarias a SEQ ID NOs 1-132 o variantes alélicas de la misma.

27. Un método de regulación en sentido decreciente de la expresión de β -catenina en una célula, que comprende poner en contacto la célula con un oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-16.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Síntesis del monómero

Los bloques de construcción del monómero LNA y derivados se prepararon siguiendo procedimientos publicados y referencias citadas en ellos - véase WO 07/031081 y las referencias citadas en dicho lugar.

Ejemplo 2: Síntesis de oligonucleótidos

Se sintetizaron oligonucleótidos de acuerdo con el método descrito en WO 07/031081. La Tabla 1 muestra ejemplos de motivos de oligonucleótidos antisentido y de la invención.

Ejemplo 3: Diseño de los oligonucleótidos

De acuerdo con la invención, se diseñaron una serie de oligonucleótidos para direccionar regiones diferentes de la β -catenina humana utilizando el número de acceso a GenBank de la secuencia publicada NM_001904, presentada en esta memoria como SEQ ID NO: 173.

La Tabla 2 muestra diseños de oligómeros de la invención. La Tabla 3 muestra motivos de secuencias 24meras a partir de los cuales pueden diseñarse oligómeros de la invención - el tipo en negrita representa motivos de secuencias 16meras como los representados en la Tabla 1.

Tabla 3 - Secuencias de Beta-Catenina 24meras				
SEQ IDs 16meras	SEQ IDs Shortmero	IDs de los Compuestos	SEQ IDs 24meras	SEQ ID 24mer
SEQ ID NO: 1	2 - 15	133 - 153	ttt gaaagctgatggacca taac	174
SEQ ID NO: 16		134 - 154	cct ccagacttaagatggccagt	175
SEQ ID NO: 17		135 - 155	aac acagaatccactgggtga acca	176
SEQ ID NO: 18	19 - 32	136 - 156	aaac gcactgcccattttagc tcct	177
SEQ ID NO: 33		137 - 157	tgct gtaatagccaagaatt taac	178
SEQ ID NO: 34	35-48	138 - 158	cagc actctgcttgggtcc acag	179
SEQ ID NO: 49		139 - 159	catt ccaccagcttctaca atagc	180
SEQ ID NO: 50		140 - 160	ctgag aggtccaaagacagtt ctga	181
SEQ ID NO: 51		141 - 161	tacc accactggcagacc atca	182
SEQ ID NO: 52		142 - 162	agct gcacaacaatggaat ggta	183
SEQ ID NO: 53		143 - 163	ccct gcagctactcttggat gtt	184

Tabla 3 - Secuencias de Beta-Catenina 24meras

SEQ IDs 16meras	SEQ IDs Shortmero	IDs de los Compuestos	SEQ IDs 24meras	SEQ ID 24mer
SEQ ID NO: 54		144 - 164	gtggctccctcagcttcaatagct	185
SEQ ID NO: 55		145 - 165	atcagcagctctcattccaagccat	186
SEQ ID NO: 56		146 - 166	gccatattccaccagagtgaaaga	187
SEQ ID NO: 57		147 - 167	agcccatccatgaggtctggca	188
SEQ ID NO: 58	59 - 72	148 - 168	aattccatcttgatccattctt	189
SEQ ID NO: 73	74 - 87	149 - 169	ttcaagcaagcaagtcagtacc	190
SEQ ID NO: 88	89-102	150 - 170	attagaaattgctgtagcagtatt	191
SEQ ID NO: 103	104-117	151 - 171	attagtgtctacaccattactca	192
SEQ ID NO: 118	119-132	152 - 172	caaaaacatgaaatagatccacct	193

Ejemplo 4: Modelo *in vitro*: Cultivo de células

5 El efecto de los oligonucleótidos antisentido sobre la expresión de los ácidos nucleicos diana pueden testarse en cualquiera de una diversidad de tipos de célula con tal que el ácido nucleico diana esté presente a niveles medibles. La diana puede expresarse endógenamente o por transfección transitoria o estable de un ácido nucleico codificante de dicho ácido nucleico. El nivel de expresión del ácido nucleico diana puede determinarse rutinariamente utilizando, por ejemplo, análisis por transferencia Northern, PCR en tiempo real, y ensayos de protección de ribonucleasas. Los tipos de células siguientes se proporcionan para propósitos ilustrativos, pero pueden utilizarse rutinariamente otros tipos de células, con tal que la diana se exprese en el tipo de célula seleccionado.

Las células se cultivaron en el medio apropiado como se describe más adelante y se mantuvieron a 37°C a 95-98% de humedad y 5% de CO₂. Las células se sometieron a pases rutinariamente 2-3 veces por semana.

15 **SW480:** La línea de células de cáncer colorrectal humana SW480 se cultivó en medio L-15 (Leibovitz) + 10% de suero de bovino fetal (FBS) + Glutamax I + pen/strep.

20 **HCT116:** La línea de células de cáncer colorrectal humana HCT116 se cultivó en medio 5^a modificado de McCoy (Sigma) + 10% de suero de bovino fetal (FBS) + Glutamax I + pen/strep.

Ejemplo 5: Modelo *in vitro*: Tratamiento con oligonucleótido antisentido

25 Las células se trataron con oligonucleótido utilizando la formulación de liposomas catiónica LipofectAMINE 2000 (Gibco) como vehículo de transfección. Las células se sembraron en placas de cultivo de células de 6 pocillos (NUNC) y se trataron cuando alcanzaron 75-90% de confluencia. Las concentraciones de oligonucleótidos utilizadas variaban desde 1 nM a 25 nM de concentración final. La formulación de los complejos oligonucleótido-lípido se llevó a cabo esencialmente como se describe por el fabricante utilizando Opti-MEM exento de suero (Gibco) y una concentración final de lípido de 10 µg/ml de LipofectAMINE 2000. Las células se incubaron a 37°C durante 4 horas y se paró el tratamiento por retirada del medio de cultivo que contenía oligonucleótido. Se lavaron las células y se añadió medio que contenía suero. Después del tratamiento con oligonucleótido, se dejó que las células recuperaran durante 20 horas antes de recoger las mismas para el análisis de RNA.

Ejemplo 6: Modelo *in vitro*: Extracción del RNA y síntesis de cDNA

35 Para el aislamiento de RNA a partir de las líneas de células, se utilizó el kit RNeasy mini (Qiagen, cat. No. 74104) de acuerdo con el protocolo proporcionado por el fabricante.

40 La síntesis de la primera cadena se llevó a cabo utilizando reactivos de Transcriptasa Inversa de Ambion de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

45 Para cada muestra se ajustaron 0,5 µg de RNA total a (10,8 µl) con H₂O exenta de RNasa y se mezclaron con 2 µl de decámeros aleatorios (50 µM) y 4 µl de mezcla de dNTP (2,5 mM de cada dNTP) y se calentaron a 70°C durante 3 minutos, después de lo cual las muestras se enfriaron rápidamente en hielo. Después del enfriamiento en hielo de las muestras, se añadieron a cada muestra 2 µl de tampón RT10x, 1 µl de Transcriptasa Inversa de MMLV (100 U/µl) y 0,25 µl de inhibidor de RNasa (10 U/µl), seguido por incubación a 42°C durante 60 min, desactivación por calentamiento de la enzima a 95°C durante 10 min, y finalmente la muestra se enfrió a 4°C.

Ejemplo 7: Modelo *in vitro*: Análisis de la Inhibición por los Oligonucleótidos de la Expresión de β -Catenina por PCR en Tiempo Real

La modulación antisentido de la expresión de β -catenina puede ensayarse de diversas maneras conocidas en la técnica. Por ejemplo, los niveles de mRNA de β -catenina pueden cuantificarse mediante, v.g., análisis por transferencia Northern, reacción competitiva en cadena de polimerasa (PCR), o PCR en tiempo real. Actualmente se prefiere la PCR cuantitativa en tiempo real. El análisis del RNA puede realizarse sobre RNA celular total o mRNA. Los métodos de aislamiento de RNA y análisis de RNA tales como el análisis por transferencia Northern son rutinarios en la técnica y se exponen, por ejemplo, en Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley y Sons.

La PCR cuantitativa en tiempo real puede realizarse convenientemente utilizando el Sistema de Detección PCR Multicolor en Tiempo Real disponible comercialmente, que puede adquirirse de Applied Biosystems.

Análisis por PCR Cuantitativa en Tiempo Real de los Niveles de mRNA de β -Catenina

El contenido de las muestras de mRNA de β -catenina humana se cuantificó utilizando el Reactivo de Ensayo TaqMan de beta-catenina humana Pre-Desarrollado por ABI Prism (Applied Biosystems, cat. No. Hs00170025_m1) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

La cantidad de mRNA de gliceraldehido-3-fosfato-deshidrogenasa (GAPDH) se utilizó como control endógeno para normalización de cualquier varianza en la preparación de la muestra.

El contenido de mRNA de GAPDH humana en la muestra se cuantificó utilizando el Reactivo de Ensayo TaqMan de GAPDH Pre-Desarrollado por ABI Prism (Applied Biosystems, cat. No. 4310884E) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La PCR cuantitativa en tiempo real es un método bien conocido en la técnica y se expone por ejemplo en Heid et al. Real Time quantitative PCR, Genome Research (1996), 6:986-994.

PCR en Tiempo Real

El cDNA de la síntesis de la primera cadena realizada como se describe en el mayúsculas en negrita se diluyó 2-20 veces, y se analizó por PCR cuantitativa en tiempo real utilizando TaqMan 7500 FAST de Applied Biosystems. Los cebadores y la sonda se mezclaron con Master Mix 2x PCR TaqMan Fast Universal (2x) (Applied Biosystems, cat. #4364103) y se añadieron a 4 μ l de cDNA hasta un volumen final de 10 μ l. Cada muestra se analizó por triplicado. El ensayo de diluciones al doble de un cDNA que se había preparado sobre material purificado a partir de una línea de células que expresaba el RNA de interés generó curvas estándar para los ensayos. Se utilizó H₂O estéril en lugar de cDNA para el control sin molde. Programa de la PCR: 95°C durante 30 segundos, seguido por 40 ciclos de 95°C, 3 segundos, 60°C, 30 segundos. Las cantidades relativas de la secuencia de mRNA diana se determinaron a partir del ciclo umbral calculado utilizando el software de Applied Biosystems Fast System SDS, versión 1.3.1.21.

mayúsculas en negrita : Análisis *in vitro*: Inhibición Antisentido de la Expresión de β -Catenina Humana por los Oligonucleótidos

Los oligonucleótidos de la Tabla 2 se evaluaron respecto a su potencial para desactivar el mRNA de β -catenina a concentraciones de 1, 5 y 25 nM en células SW480 (véase Figura 2). Los datos se presentan en la Tabla 4 como porcentaje de regulación decreciente de mRNA de β -catenina con relación a células transfectadas falsamente a 5 nM. Las letras minúsculas representan unidades de DNA, las letras mayúsculas y en negrita representan unidades β -D-oxi-LNA. Todos los LNA C son C 5'-metilo. El subíndice "s" representa el enlace fosforotioato.

Tabla 4		
Sustancia de test	Secuencia (5'-3')	Beta-catenina (% inhib.)
SEQ ID NO: 153	G_sA_sA_sa_sg_sC_st_sg_sa_st_sg_sa_sC_sC_sA	88,11%
SEQ ID NO: 154	C_sA_sG_sa_sC_st_st_sa_sa_sa_sg_sa_st_sG_sG_sC	86,4%
SEQ ID NO: 155	C_sA_sG_sa_sa_st_sC_sC_sa_sC_st_sg_sg_sT_sG_sA	76,6%
SEQ ID NO: 156	G_sC_sA_sC_st_sg_sC_sC_sa_st_st_st_sA_sG_sC	89,2%
SEQ ID NO: 157	G_sT_sA_sa_st_sa_sg_sC_sC_sa_sa_sg_sa_sA_sT_sT	56,4%
SEQ ID NO: 158	A_sC_sT_sC_st_sg_sC_st_st_sg_st_sg_sT_sC_sC	77,6%
SEQ ID NO: 159	C_sC_sA_sC_sC_sa_sg_sC_st_st_sC_st_sa_sC_sA_sA	49,7%
SEQ ID NO: 160	G_sA_sG_st_sC_sC_sa_sa_sg_sa_sC_sa_sG_sT_sT	60,1%
SEQ ID NO: 161	A_sC_sC_sC_sa_sC_st_st_sg_sg_sC_sa_sg_sA_sC_sC	75,6%

Tabla 4		
Sustancia de test	Secuencia (5'-3')	Beta-catenina (% inhib.)
SEQ ID NO: 162	G _s C _s A _s C _s a _s a _s a _s C _s a _s a _s t _s g _s g _s A _s A _s T	10,8%
SEQ ID NO: 163	G _s C _s A _s g _s C _s t _s a _s C _s t _s C _s t _s t _s G _s G _s A	48,3%
SEQ ID NO: 164	C _s T _s C _s C _s C _s t _s C _s a _s g _s C _s t _s t _s C _s A _s A _s T	35,5%
SEQ ID NO: 165	G _s C _s A _s g _s t _s C _s t _s C _s a _s t _s C _s C _s A _s A _s G	25,5%
SEQ ID NO: 166	T _s A _s T _s C _s C _s a _s C _s a _s g _s a _s g _s t _s G _s A _s A	27,3%
SEQ ID NO: 167	C _s A _s T _s C _s C _s a _s t _s g _s a _s g _s t _s C _s C _s T _s G	24,5%
SEQ ID NO: 168	C _s C _s A _s t _s C _s t _s g _s t _s g _s a _s t _s C _s C _s A _s T	74,4%
SEQ ID NO: 169	A _s A _s G _s C _s a _s a _s g _s C _s a _s a _s g _s t _s C _s A _s G	87,5%
SEQ ID NO: 170	G _s A _s A _s a _s t _s g _s C _s t _s g _s a _s g _s C _s A _s G	91,5%
SEQ ID NO: 171	G _s T _s G _s t _s C _s t _s a _s C _s a _s C _s C _s T _s T _s A	94,9%
SEQ ID NO: 172	A _s A _s C _s a _s t _s g _s a _s a _s t _s a _s g _s a _s T _s C _s C	93,6%
SEQ ID NO: 194	C _s G _s T _s C _s a _s g _s t _s a _s t _s g _s C _s g _s A _s A _s T _s C	

Como se muestra en la Tabla 4, los oligonucleótidos de SEQ ID NOS: 153, 154, 155, 156, 158, 161, 168, 169, 170, 171 y 172 demostraron aproximadamente 74% o más de inhibición de la expresión de mRNA de β-catenina a 5 nM en estos experimentos, y por consiguiente se prefieren.

5

Se prefieren también oligonucleótidos basados en las secuencias oligo antisentido ilustradas, por ejemplo variando la longitud (más cortos o más largos) y/o el contenido de nucleobases (v.g. el tipo y/o la proporción de unidades de análogos), que proporcionan también inhibición satisfactoria de la expresión de β-catenina).

10 Ejemplo 9: Análisis *in vitro*: Análisis por Transferencia Western de los Niveles de Proteína β-Catenina

Se determinó por transferencia Western el efecto *in vitro* de los compuestos oligómeros sobre los niveles de la proteína β-catenina en células transfectadas. 200.000 células SW480 transfectadas con oligonucleótidos como se describe en el Ejemplo 5 se recogieron y se lisaron en tampón de lisis RIPA (Tris-HCl 50 mM de pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, 1% Triton X-100, 0,1% SDS, 1% desoxicolato de sodio) complementado con cóctel inhibidor de proteasas (Roche). Las concentraciones totales de proteína se midieron utilizando un kit de ensayo de proteínas BCA (Pierce). Se pasaron 50 µg de proteína total sobre geles de Tris-acetato al 3-8% y se transfirieron sobre membranas de PVDF de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Invitrogen). Después de incubación durante una noche en tampón de bloqueo (PBS-T complementado con 5% de leche en polvo con bajo contenido de grasa), las membranas se incubaron durante una noche con un anticuerpo anti-β-catenina (BD Transduction Laboratories). Como control de carga se detectó tubulina utilizando anticuerpos monoclonales de Neomarker. Se incubaron luego las membranas con anticuerpos secundarios y se visualizaron las proteínas β-catenina o tubulina utilizando un kit de detección quimioluminiscente ECL⁺ (Amersham). Véase la Figura 3.

25 Ejemplo 10: Medida de Células Viables Proliferantes (ensayo MTS)

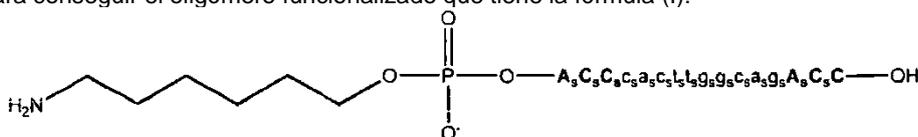
Se sembraron células de cáncer colorrectal HCT116 a una densidad de 200.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos en medio 5a modificado de McCoy (Sigma M8403) + Glutamax I 2 mM (Gibco 35050-038) + 10% FBS (Brochrom #193575010) + 25 µg/ml de gentamicina (Sigma G1397, 50 mg/ml) el día anterior a la transfección. Al día siguiente se retiró el medio seguido por adición de 1,2 ml de OptiMEM que contenía 7,5 µg/ml de Lipofectamine 2000 (Invitrogen). Las células se incubaron durante 7 minutos antes de añadir 0,3 ml de oligonucleótidos diluidos en OptiMEM. La concentración final de oligonucleótidos era 25 nM. Después de 4 horas de tratamiento, se retiró el medio y las células de tripsinizaron y se sembraron a una densidad de 5.000 células por pocillo en placas claras de 96 pocillos (Scientific Orange No. 1472030100) en 100 µl de medio 5a modificado de McCoy (Sigma M8403) + Glutamax I 2 mM (Gibco 35050-038) + 10% FBS (Brochrom #193575010) + 25 µg/µl de gentamicina (Sigma G1397, 50 mg/ml). Las células viables se midieron en los momentos indicados por adición de 10 µl del compuesto de tetrazolio [3-(4,5-dimetil-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio, sal interna; MTS] y un reactivo de acoplamiento de electrones (etosulfato de fenacina; PES) (Ensayo de Proliferación de Células AQueous One Solution CellTiter 96®, Promega). Las células viables se midieron a 490 nm en un instrumento Powerwave (Biotek Instruments). Se representaron gráficamente los valores OD490 frente al tiempo/h (véase Figura 4).

Ejemplo 11: Inhibición del mRNA de β-Catenina en Hígado de Ratón

Se dosificaron por vía intravenosa ratones NMRI con 25 mg/kg de oligonucleótido (SEQ ID NO: 156, 158, 168, 169, 171) en 3 días consecutivos (tamaño de grupo, 5 ratones). Los oligonucleótidos antisentido se disolvieron en solución salina al 0,9% (NaCl). Los animales se sacrificaron 25 horas después de la última dosis y se tomaron muestras de tejido hepático que se guardaron en RNA más tarde hasta la extracción del RNA y el análisis QPCR. Se extrajo el RNA total y se midió la expresión de mRNA de β -catenina en las muestras hepáticas por QPCR como se describe en el Ejemplo 7 utilizando un ensayo QPCR de β -catenina de ratón (cat. Mm00483033_m1, Applied Biosystems). Los resultados se normalizaron para GAPDH de ratón (cat. no. 4352339E, Applied Biosystems) y se representaron gráficamente con relación a controles tratados con solución salina, véase la Figura 5.

10 **Ejemplo 12: Preparación de un Conjugado de SEQ ID NO: 161 y Polietilenglicol**

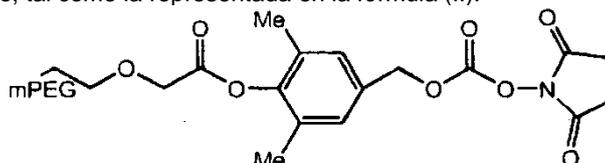
El oligómero que tiene SEQ ID NO: 161 se funcionaliza en el término 5' por fijación de un grupo aminoalquilo, tal como hexan-1-amina bloqueada con un grupo de bloqueo tal como Fmoc al grupo 5' fosfato del oligómero utilizando química rutinaria de fosoramidito, oxidación del compuesto resultante, desprotección del mismo y purificación subsiguiente para conseguir el oligómero funcionalizado que tiene la fórmula (I):



(I)

en donde las letras mayúsculas en negrita y el subíndice "s" en SEQ ID NO: 161 tienen el mismo significado que se ha expuesto anteriormente.

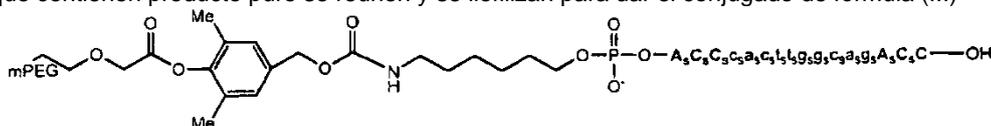
20 Una solución de PEG activado, tal como la representada en la fórmula (II):



(II)

en donde el resto PEG tiene un peso molecular medio de 12.000, y el compuesto de fórmula (I) en tampón de PBS se agita a la temperatura ambiente durante 12 horas. La solución de reacción se extrae 3 veces con cloruro de metileno y las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de magnesio y se filtran, y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo se disuelve en agua bidestilada y se carga en una columna de intercambio aniónico. El enlazador PEG sin reaccionar se eluye con agua y el producto se eluye con solución de NH_4HCO_3 . Las fracciones que contienen producto puro se reúnen y se liofilizan para dar el conjugado de fórmula (III)

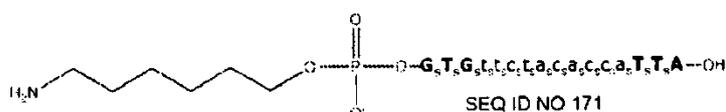
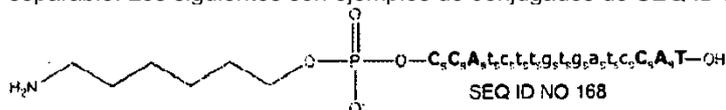
25

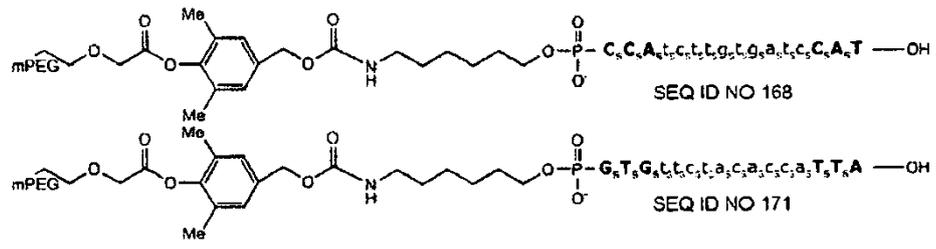


(III)

en donde el oligómero de SEQ ID NO: 161 está unido a un polímero PEG que tiene un peso molecular medio de 12.000 por un enlazador separable. Los siguientes son ejemplos de conjugados de SEQ ID NO 168 y 171:

30





LISTADO DE SECUENCIAS

<11C> Santaris A/S
 <120> COMPUESTOS ANTAGONISTAS DE RNA PARA LA MODULACIÓN DE BETA-CATENINA.
 5 <130> 17206PCT00
 <160> 194
 <170> Patent In version 3.5
 <210> 1<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 10 <400> 1gaaagtgt ggacca 16
 <210> 2<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 2gaaagctgat ggacc 15
 <210> 3<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 15 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 3aaagctgatg gacca 15
 <210> 4<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 4gaaagctgat ggac 14
 20 <210> 5<211> 14<212> DNA,<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 5aaagctgatg gacc 14
 <210> 6<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 25 <400> 6aagctgatgg acca 14
 <210> 7<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 7gaaagctgat gga 13
 <210> 8<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 30 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 8aaagctgatg gac 13
 <310> 9<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 9aagctgatgg acc 13
 35 <210> 10<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 10agctgatgga cca 13
 <210> 11<211> 12<212> LNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 40 <400> 11gaaagctgat gg 12
 <210> 12<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 12aaagctgatg ga 12
 <210> 13<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 45 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 13aagctgatgg ac 12
 <210> 14<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 14agctgatgga cc 12
 50 <210> 15<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 15gctgatggac ca 12
 <210> 16<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 55 <400> 16cagactaaa gatggc 16
 <210> 17<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 17cagaatccac tggtag 16
 <210> 18<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 60 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 18gcactgcat ttagc 16
 <210> 19<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial.
 <400> 19gcactgcat ttag 15

<210> 20<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 20cactgccatt ttagc 15
 5 <210> 21<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 21gcactgccat tta 14
 <210> 22<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 22cactgccatt ttag 14
 10 <210> 23<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 23actgccattt tagc 14
 <210> 24<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 15 <400> 24gcactgccat ttt 13
 <210> 25<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 25cactgccatt tta 13
 20 <210> 26<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 26actgccattt tag 13
 <210> 27<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 27ctgccatttt agc 13
 25 <210> 28<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 28gcactgccat tt 12
 <210> 29<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 30 <400> 29cactgccatt tt 12
 <210> 30<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 30actgccattt ta 12
 35 <210> 31<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 31ctgccatttt ag 12
 <210> 32<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 32tgccatttta gc 12
 40 <210> 33<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 33gtaatagcca agaatt 16
 <210> 34<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 45 <400> 34actctgcttg tggc 16
 <210> 35<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 35actctacttg tggc 15
 50 <210> 36<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 36ctctgctgt ggtcc 15
 <210> 37<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 37actctgcttg tgg 14
 55 <210> 38<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 38ctctgctgt ggtc 14
 <210> 39<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 60 <400> 39ctgctgtg gtcc 14
 <210> 40<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><222> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 40actctgcttg tgg 13
 <210> 41<211> 13<212> DNA<213> Artificial

<220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400>ctctgcttggt 13
 <210> 42<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 5 <400> 42tctgcttg gtc 13
 <210> 43<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 43ctgcttggtg tcc 13
 <210> 44<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 10 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 44actgcttg tg 12
 <210> 45<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 45ctctgcttg gg 12
 15 <210> 46<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 46tctgcttg gt 12
 <210> 47<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 20 <400> 47ctgcttggtg tc 12
 <210> 48<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 48tgcttggtg cc 12
 <210> 49<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 25 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 49ccaccagctt ctacaa 16
 <210> 50<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 50gagtccaag acagtt 16
 30 <210> 51<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 51accacttg cagacc 16
 <210> 52<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 35 <400> 52gcacaacaa tggaat 16
 <210> 53<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 53gcagctactc ttgga 16
 <210> 54
 40 <-211> 16
 <212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 54ctccctcagc ttcaat 16
 <210> 55<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 45 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 55gcagtctcat tccaag 16
 <210> 56<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 56tatccaccag agtgaa 16
 50 <210> 57<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 57catccatgag gtctg 16
 <210> 58<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 55 <400> 58ccatcttg atccat 16
 <210> 59<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 59ccatcttg atcca 15
 <210> 60<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 60 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 60catcttgga tccat 15
 <210> 61<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 61ccatcttg atcc 14

<210> 62<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 62catcttgat tcca 14
 5 <210> 63<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 63atcttgat ccat 14
 <210> 64<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 64ccatcttgat atc 13
 10 <210> 65<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 65catcttgat tcc 13
 <210> 66<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 15 <400> 66atcttgat cca 13
 <210> 67<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 67tcttgatc cat 13
 20 <210> 68<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 68ccatcttgat at 12
 <210> 69<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 69catcttgat tc 12
 25 <210> 70<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><220> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 70atcttgat cc 12
 <210> 71<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 30 <400> 71tcttgatc ca 12
 <210> 72<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 72cttgatcc at 12
 <210> 73<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 35 <400> 73aagcaagcaa agtcag 16
 <210> 74<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 74aagcaagcaa agtca 15
 40 <210> 75<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 75agcaagcaaa gtcag 15
 <210> 76<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 45 <400> 76aagcaagcaa agtc 14
 <210> 77<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 77agcaagcaaa gtc 13
 <210> 78<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 50 <400> 78gcaagcaaag tcag 14
 <210> 79<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 79aagcaagcaa agt 13
 55 <210> 80<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 80agcaagcaaa gtc 13
 <210> 81<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 60 <400> 81gcaaqcaaaag tca 13
 <210> 82<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 82caagcaaagt cag 13
 <210> 83<211> 12<212> DNA<213> Artificial

<220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 83aagcaagcaa ag 12
 <210> 84<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 5 <400> 84agcaagcaaa gt 12
 <210> 85<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 85gcaagcaaag tc 12
 <210> 86<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 10 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 86caagcaaagt ca 12
 <210> 87<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 87aagcaaagtc ag 12
 15 <210> 88<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 88gaaattgctg tagcag 16
 <210> 89<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 20 <400> 89gaaattgctg tagca 15
 <210> 90<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 90aaattgctgt agcag 15
 <210> 91<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 25 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 91gaaattgctg tagc 14
 <210> 92<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 92aaattgctgt agca 14
 30 <210> 93<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 93aattgctgta gcag 14
 <210> 94<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 35 <400> 94gaaattgctg tag 13
 <210> 95<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 95aaattgctgt agc 13
 <210> 96<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 40 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 96aattgctgta gca 13
 <210> 97<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 97attgctgtag cag 13
 45 <210> 98<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 98gaaattgctg ta 12
 <210> 99<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 50 <400> 99aaattgctgt ag 12
 <210> 100<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 100adtgctgta gc 12
 <210> 101<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 55 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 101attgctgtag ca 12
 <210> 102<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 102ttactgtagc ag 12
 60 <210> 103<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 103gtgttctaca ccatta 16
 <210> 104<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial

<400> 104gtgttctaca ccatt 15
 <210> 105<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 105tattctacac catta 15
 5 <210> 106<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 106gtgttctaca ccat 14
 <210> 107<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 10 <400> 107gttctacac catt 14
 <210> 108<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 108gttctacacc atta 14
 <210> 109<211> 13<212> DNA<213> artificial
 15 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 109gtgttctaca cca 13
 <210> 110<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 110gttctacac cat 13
 20 <210> 111<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 111gttctacacc att 13
 <210> 112<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 25 <400> 112ttctacacca tta 13
 <210> 113<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 113gtgttctaca cc 12
 <210> 114<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 30 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <40C> 114gttctacac ca 12
 <210> 115<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 115gttctacacc at 12
 35 <210> 116<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 116ttctacacca tt 12
 <210> 117<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 40 <400> 117tctacacat ta 12
 <210> 118<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 113aacatgaaat agatcc 16
 <210> 119<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 45 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 119aacatgaaat agatc 15
 <210> 120<211> 15<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificials
 <400> 120acatgaaata gatcc 15
 50 <210> 121<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 121aacatgaaat agat 14
 <210> 122<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 55 <400> 122acatgaaata gatc 14
 <210> 123<211> 14<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 123catgaaatag atcc 14
 <210> 124<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 60 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 124aacatgaaat nga 13
 <210> 125<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 125acatgaaata gat 13

<210> 126<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 126catgaaatag atc 13
 <210> 127<211> 13<212> DNA<213> Artificial
 5 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 127atgaaataga tcc 13
 <210> 128<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 128aacatgaaat ag 12
 10 <210> 129<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 129acatgaaata ga 12
 <210> 130<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 15 <400> 130catgaaatag at 12
 <210> 131<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 <400> 131atgaaataga tc 12
 <210> 133<211> 12<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Motivo de Secuencia Artificial
 20 <400> 132tgaatagat cc 12
 <210> 133<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 25 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 133gaaagctgat ggacca 16
 <210> 134<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 30 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 134cagacttaa gatggc 16
 <210> 135<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 35 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 135cagaatccac tggatga 16
 <210> 136<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 45 <400> 136gcactgcat ttagc 16
 <210> 137<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 50 <400> 137gtaatagcca agaatt 16
 <210> 133<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 138actctgcttg tggctc 16
 <210> 139<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 60 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 139ccaccagctt ctacaa 16
 <210> > 140<211> 16<212> DNA<213> Artificial

- <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(15)
- 5 <400> 140gagtccaaag acagtt 16
 <210> 141<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
- 10 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 141accacttgg cagacc 16<210> 142<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
- 15 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 142gcacaaaca tggaat 16
 <210> 143<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
- 20 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 143gcagctactc ttgga 16
 <210> 144<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
- 25 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1) .. (3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 144ctccctcagc ttcaat 16
 <210> 145<211> 16<212> DNA<213> Artificial
- 30 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 145gcagtctcat tccaag 16
- 35 <210> 146<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
- 40 <400> 146tatccaccag agtgaa 16
 <210> 147<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
- 45 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(16)
 <400> 147catccatgag gtcctg 16
 <210> 148<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
- 50 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1).. (3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14).. (16)
 <400> 148ccatcttgat atccat 16
 <210> 149<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
- 55 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (:4)..(16)
 <400> 199aagcaagcaa agtcag 16
 <210> 150<211> 16<212> DNA<213> Artificial
- 60 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(15)
 <400> 150gaaattgctg tagcag 16

- <210> 151<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 5 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(15)
 <400> 151gtgttctaca ccatta 16
 <210> 152<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Diseños de oligómeros
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 10 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (1)..(3)
 <220><221> análogos de nucleótidos<222> (14)..(16)
 <400> 152aacatgaaat agatcc 16
 <210> 153<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 15 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <40C> 153gaaagctgat ggacca 16
 <210> 154<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 20 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 154cagacttaa gatggc 16
 25 <210> 155<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 30 <400> 155cagaatccac tggtag 16
 <210> 156<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 35 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 756gacactgcat ttagc 16
 <210> 157<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 40 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 157gtaatagcca agaatt 16
 <210> 158<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 45 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <100> 158actctgcttg tgggcc 16
 <210> 159<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 50 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 159ccaccagctt ctacaa 16
 55 <210> 160<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 60 <400> 160gagtcaaag acagtt 16
 <210> 161<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)

<220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 161accacttgg cagacc 16
 <210> 162<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 5 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 162gcacaaacaa tggaat 16
 <210> 163<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 10 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 163gcagctactc tttgga 16
 15 <210> 164<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 20 <400> 164ctccctcagc ttcaat 16
 <210> 165<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 25 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 165gcagtctcat tccaag 16
 <210> 166<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 30 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 166tatccaccag agtgaa 16
 <210> 167<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 35 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16.)
 <400> 167catccatgag gtcctg 16
 <210> 168<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 40 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 168ccatctgtg atccat 16
 45 <210> 169<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 50 <400> 169aagcaagcaa agtcag 16
 <210> 170<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 55 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 170gaaattgctg tagcag 16
 <210> 171<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220> <223> Sustancia de test
 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 60 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 171gtattctaca ccatta 16
 <210> 172<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test

ES 2 399 371 T3

<220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (14)..(16)
 <400> 172 16aacatgaaat agatcc 16

5 <210> 173<211> 3697<212> DNA<213> homo sapiens

<400> 173
 cccacgcgta cgggcagcag cgttggcccg gcccccggag cggagagcga ggggagggcg 60
 agacggagga aggtctgagg agcagcttca gtccccgccg agccgccacc gcaggtcgag 120
 gacggtcggg ctccccgcgc gggaggagcc tgttcccctg aggytatctg aagtatacca 180
 tacaactggt ttgaaaatcc agcgtggaca atggctactc aagctgattt gatggagttg 240
 gacatggcca tggaaaccaga cagaaaagcg gctgttagtc actggcagca acagtcttac 300
 ctggactctg gaatccattc tggtgccact accacagctc cttctctgag tggtaaaggc 360
 aatcctgagg aagaggatgt ggatacctcc caagtctctg atgagtgagg acagggattt 420
 tctcagtcct tcaactcaag acaagtagct gatattgatg gacagtatgc aatgactcga 480
 gctcagaggg tacagctgc tatgttccct gagacattag atgagggcat gcagatccca 540
 tctacacagt ttgatgctgc tcatcccaat aatgtccagc gtttggctga accatcacag 600
 atgctgaaac atgcagttgt aaacttgatt aactatcaag atgatgcaga acttgccaca 660
 cgtgcaatcc ctgaaactgac aaaactgcta aatgacgagg accaggtcgt ggttaataag 720
 gctgcagtta tggtecatca gctttctaaa aaggaagctt ccagacacgc tateatgct 780
 tctctcaga tgggtctctg tattgtactt accatgcaga atacaaatga tgtagaaaca 840
 gctcgttgta ccgctgggac cttgcataac ctttcccac atcgtgaggg cttactggcc 900
 atctttaagt ctggagggat tctgtccctg gtgaaaatgc ttggttcacc agtggattct 960
 gtgttgtttt atgccattac aactctccac aaccttttat tacatcaaga aggagctaaa 1020
 atgacagtyc gtttaqctgg tgggtgcag aaaatggttg ctttgcctca caaaacaaat 1080
 gttaaattct tggctattac gacagactgc cttcaaattt tagcttatgg caaccaagaa 1140
 agcaagctca tcatactgc tagtggtgga ccccaagctt tagtaaatat aatgaggacc 1200
 tatacttacg aaaaactact gtggaccaca agcagagtyc tgaagtyct atctgtctgc 1260

ES 2 399 371 T3

tctagtaata agccggctat tgtagaagct ggtggaatgc aagctttagg acttcacctg	1320
acagatccaa gtcacagctt tgttcagaac tgtctttgga ctctcaggaa tctttcagat	1360
gctgcaacta aacaggaagg gatggaaggt ctctctggga ctcttgttca gcttctgggt	1440
tcagatgata taaatgtggt cactctgtga gctggaatc tttctaacct cacttgcaat	1500
aattataaga acaagatgat ggtctgcca gttgggtgga tagaggctct tgtgcgtact	1560
gtccttcggg ctgggtgacag ggaagacac actgagcctg ccactctgtc tcttcgtcat	1620
ctgaccagcc gacaccaaga agcagagatg gcccaaatg cagttctgct tcactatgga	1680
ctaccagtty tggthaaact cttaacacca ccactccact ggctctgat aaaggctact	1740
gthggattga ttcgaaatct tgcctttgt ccgcacaatc atgcacctt gcgtgagcag	1800
ggtgccattc acgactagt tcagttgctt gttctgtcac atcaggatac ccagcgcct	1860
acgtccatgg gtgggacaca gcagcaattt gtggaggggg tccgcatgga agaaatagtt	1920
gaaggttcta cgggagccct tcacatccta gctcgggatg ttcacaaccg aattgttata	1980
agaggactaa ataccattcc attgtttgtg cagctgcttt attctccat tgaaacatc	2040
caaagagtag ctgcaggggt cctctgtgaa ctgctcagg acaaggaagc tgcagaagct	2100
attgaagctg agggagccc agctcctctg acagagttac ttcactctag gaatgaaggt	2160
gtggcgacat atgcagctgc tgttttgttc cgaatgtctg aggacaagcc acaagattac	2220
aagaaacggc tttcagttga gctgaccagc tctctcttca gaacagagcc aatggcttg	2280
aatgagacty ctgatcttgg acttgatatt ggtgcccagg gagaaccct tggatatcgc	2340
caggatgato ctagctatcg tctttttcac tctggtggat atggccagga tgccttgggt	2400
atggacccca tgatggaaca tgagatgggt gcccaccacc ctggtgctga ctatccagtt	2460
gatggctgc cagatctggg gcctgcccag gacctcatgg atgggtgccc tccaggtgac	2520
agcaatcagc tggcctggtt tgatactgac ctgtaaatca tcttttaggt aagaagtttt	2580
aaaaagccag tttgggtaaa atacttttac tctgctaca gaacttcaga aagacttqyt	2640
tqqtagggtg gqagtggttt aggtattttg taaatctgcc acaaaaacag qtatatactt	2700
tqaaaaggag tgtcttqgaa cattggaatg ttctcagatt tctggttqtt atgtgatsat	2760
gtgtggaagt tattaacttt aatgtttttt gccacagctt ttgcaactta atactcaaat	2820
gagtaacatt tgcgtttta aacattaata gcagcctttc tctctttata cagctgtatt	2880
gtctgaactt gcatttgtat tggcctgtag agttgctgag aggyctcag ggtgggctg	2940

ES 2 399 371 T3

	gtatctcaga aagtgcctga cacactaacc aagctgagtt tccatgqga acaattgaag	3000
	taaacTTTTT gttctggtcc tttttggtcg aggagtaaca atacaaatgg attttgggag	3060
	tgantcaaga agtgaagaat gcacaagaat ggatcacaag atggaattta gcaaacccca	3120
	gccttgcttg ttaaaatTTT tttttTTTT ttttaagaat atctgtaatg gtactgactt	3180
	tgcttgcttt gaagttagctc tttttTTTT tttttTTTT ttttttttgc agtaactggt	3240
	ttttaagctc ctctgtagtg taagttatag tgaatactgc tacagcaatt tctaattTTT	3300
	aagaattgag taatggtgta gaacactaat taattcataa tcaactcaat taattgtaat	3360
	ctgaataaag tgtaacaatt gtgtagcctt tttgtataaa atagacaaat agaaaatggt	3420
	ccaattagct tccTTTTaa tatgctraaa ataagcaggt ggatctatTT catgTTTTg	3480
	atcaaaaact atttgggata tgtatgggta gqgtaaatca gtaagaggtg ttatttggaa	3540
	ccttgTTTTg gacagtttac cagttgcctt tttccccaaa gttgTTgtaa cctgctgTga	3600
	tacgatgctt caagagaaaa tgcggttata aaaaatggtt cagaattaaa cttttaatto	3660
	attcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa	3697
	<210> 174<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
	<400> 174tttagaaagc tgatcrgacca taac	24
5	<210> 175<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
	<400> 175cctccagact taaagatgac cagt	24
	<210> 176<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
10	<400> 176aacacagaat ccactggtga acca	24
	<210> 177<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
	<400> 177aaacgcactg ccattttagc tcct	24
	<210> 178<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
15	<400> 178tgtcgtata gccagaatt taac	24
	<210> 179<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
	<400> 179cagcactctg cttgtggtcc acag	24
	<210> 180<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
	<400> 180cattccacca gcttctaca tagc	24
	<210> 181<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
25	<400> 181ctgagagtcc aaagacagtt ctga	24
	<210> 182<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
	<400> 182taccaccac ttggcagacc atca	24
	<210> 183<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
30	<400> 183agctgcaca acaatggaat ggta	24
	<210> 184<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
	<400> 184ccctgeagct actctttgga tggt	24
	<210> 185<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
	<400> 185gtggctcct cagcttcaat agct	24
	<210> 186<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
40	<400> 186atcagcagtc tcattccaag ccat	24
	<210> 187<211> 24<212> DNA<213> Artificial	
	<220><223> motivos de secuencia 24meros	
	<400> 187gccatatcca ccagagtga aaga	24
	<210> 188<211> 24<212> DNA<213> Artificial	

<220><223> motivos de secuencia 24meros
 <400> 188agcccatcca tgaggtcctg ggca 24
 <210> 189<211> 24<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> motivos de secuencia 24meros
 5 <400> 189aattcatct tgtgatccat tctt 24
 <210> 190<211> 24<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> motivos de secuencia 24meros
 <400> 190ttcaagcaa gcaaagtcag tacc 24
 <210> 191<211> 24<212> DNA<213> Artificial
 10 <220><223> motivos de secuencia 24meros
 <400> 191attagaaatt gctgtagcag tatt 24
 <210> 192<211> 24<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> motivos de secuencia 24meros
 <400> 192attagtgttc tacaccatta ctca 24
 15 <210> 193<211> 24<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> motivos de secuencia 24meros
 <400> 193caaaaacatg aatagatcc acct 24
 <210> 194<211> 16<212> DNA<213> Artificial
 <220><223> Sustancia de test
 20 <220><221> enlace fosforotioato<222> (1)..(15)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (1)..(3)
 <220><221> nucleobases de LNA <222> (17)..(15)
 <400> 194 16catcagtatg cgaatc 16

REIVINDICACIONES

1. Un oligómero de 10-18 nucleobases de longitud, capaz de inhibir la expresión del gen de β -catenina, que comprende una secuencia de nucleobases contiguas de un total de 10-18 nucleobases, en donde; o bien i) dicha
5 secuencia de nucleobases contiguas es homóloga en un 100% a una región correspondiente de SEQ ID NO 192; o, ii) dicha secuencia de nucleobases contiguas comprende un solo apareamiento erróneo a una región correspondiente de SEQ ID NO: 192; y en donde dicho oligómero es una molécula monocatenaria.
2. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la secuencia de nucleobases contiguas no
10 comprende apareamiento erróneo alguno con la región correspondiente de SEQ ID NO 192.
3. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde la secuencia de nucleobases del oligómero consiste en la secuencia de nucleobases contiguas.
- 15 4. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la secuencia de nucleobases contiguas comprende análogos de nucleótidos, tales como nucleótidos modificados en el azúcar seleccionados del grupo constituido por: unidades de Ácido Nucleico Bloqueado (LNA); unidades 2'-O-alkil-RNA, unidades 2'-OMe-RNA, unidades 2'-amino-DNA, y unidades 2'-fluoro-DNA.
- 20 5. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 4, en donde los análogos de nucleótidos son LNA.
6. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5, que es un gapmero o.
7. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que inhibe la expresión del gen o
25 mRNA de β -catenina en una célula que expresa el gen o mRNA de β -catenina.
8. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la secuencia de nucleobases de dicho oligómero consiste en SEQ ID NO: 103 o SEQ ID NO: 151.
- 30 9. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde en donde el oligómero es SEQ ID NO 171:
G_sT_sG_st_st_sC_st_sa_sC_sa_sC_sa_sC_sa_sT_sT_sA
en donde las letras minúsculas representan unidades de DNA; las letras mayúsculas en negrita representan unidades β -D-oxi-LNA; todos los C de LNA son C 5'metilo; y el subíndice "s" representa un enlace fosforotioato.
- 35 10. Un conjugado que comprende el oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, y al menos un resto no-nucleotídico o no-polinucleotídico unido covalentemente a dicho oligómero.
11. Una composición farmacéutica que comprende el oligómero de acuerdo con una cualquiera de las
40 reivindicaciones 1 a 9, o el conjugado de acuerdo con la reivindicación 10, y un diluyente, portador, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable.
12. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o el conjugado de acuerdo con la
45 reivindicación 10, para uso como medicamento, por ejemplo para el tratamiento de un trastorno hiperproliferativo, tal como el cáncer.
13. El uso de un oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o un conjugado como se
50 define en la reivindicación 10, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno hiperproliferativo, tal como el cáncer.
14. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 12 o el uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el
oligómero es como se indica en la reivindicación 9.
15. Un método *in vitro* para la inhibición de β -catenina en una célula que expresa β -catenina, comprendiendo
55 dicho método administrar un oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o un conjugado de acuerdo con la reivindicación 10 a dicha célula a fin de inhibir la β -catenina en dicha célula.

Figura 1

```

1 cccacgcgtc cgggcagcag cggtggcccg gccccgggag cggagagcga ggggaggcgg
61 agacggagga aggtctgagg agcagcttca gtccccgcg agccgccacc gcaggtcagag
121 gacggtcgga ctccccggcg gggaggagcc tgttccccctg agggatattg aagtatacca
181 tacaactggt ttgaaaatcc agcgtggaca atggctactc aagctgattt gatggagttg
241 gacatggcca tgaaccaga cagaaaagcg gctgttagtc actggcagca acagtcttac
301 ctgactctg gaatccattc tgggtccact accacagctc ctctctgag tggtaaaggc
361 aatctgagg aagagatgt ggatacctcc caagtccctg atgagtggga acagggattt
421 tctcagctc tcaactcaaga acaagtagct gatattgatg gacagtagtc aatgactcga
481 gctcagaggg tacgagctgc tatgttccct gagacattag atgagggcat gcagatccca
541 tctacacagt ttgatgtgc tcatcccact aatgtccagc gtttggctga accatcacag
601 atgctgaaac atgcagttgt aaacttgatt aactatcaag atgatgcaga acttgccaca
661 cgtgcaatcc ctgactgac aaaactgcta aatgacgagg accaggtggt ggttaataag
      SEQ ID NO: 1
721 gctgcagtta tgtccatca gctttgtaaa aaggaagctt ccagacacgc tatcatgctt
781 tctcctcaga tgggtctgctc tattyctact accatgcaga atacaatatg tgtagaaaac

841 gctcgttcta ccgctgggac cttgcataac ctttcccac atcgtgaggg cttactggcc
      SEQ ID NO: 16
      NO: 17
901 atctttaagt ctgagggcat tctctgccctg gtgaaaatgc ttggttccacc agtggattct
      SEQ ID NO: 18
961 gtgttgtttt atgccattac aactctccac aaccttttat tacatcaaga aggagctaaa

1021 atggcagtcg gtttagctgg tgggctgcag aaaatggttg cttgtctcaa caaacaat
      SEQ ID NO: 33
1081 gttaaatctt tggctattac gacagactgc cttcaaattt tagcttatgg caaccaagaa
1141 agcaagctca tcaactggc tagtgggtga cccaagctt tagtaatat atagaggacc
      SEQ ID NO: 34
1201 tatacttacg aaaaactact gtggaccaca agcagagtcg tgaaggtgct atctgtctgc
      SEQ ID NO: 49
1261 tctaqaata agccggctat tgtagaaget ggtggaatgc aagctttagg acttccactg
      SEQ ID NO: 50
1321 acagatccaa gtaacgctt tgttcagaa tgtctttgga ctctcaggaa tctttcagat
1381 gctgcaacta aacaggaagg gatggaaggt ctctctggga ctcttgttca gcttctgggt
1441 tcagatgata taaatgtgt cacctgtgca gctggaatc tttctaacct cacttgcaat
      SEQ ID NO: 51
1501 aattataaga acaagatgat ggtctgccaa gtgggtggtg tagaggctct tgtcgcctact
1561 gtccttcggg ctggtgacag ggaagacatc actgagcctg ccactctgtc tcttcgctac
1621 ctgaccagcc gacaccaaga agcagagatg gcccagaatg cagttcgcct tcactatgga
1681 ctaccagttg tggtaagct cttacacca ccatcccact ggctctgct aaaggtctact
1741 gtttgattga ttcgaaatct tgcctttgt cccgcaaatc atgcaccttt ycgtagcag
1801 ggtgccattc cacgactagt tcagttgctt gttcgtgcac atcaggatac ccagcgcct
1861 acgtccatgg gtggyacaca gcagcaattt gtgaggggg tccgcatgga agaaatagtt
1921 gaaggttcta ccggagcctt tcacatccta gctcgggatg ttcacaaccg aattgttatt
      SEQ ID NO: 52
1981 agaggactaa ataccattcc attgttttg cagctgcttt attctcccat tgaaaaacatc
      SEQ ID NO: 53
2041 caaagagtag ctgcaggggt cctctgtgaa cttgctcagg acaaggaagc tgcagaagct
      SEQ ID NO: 54
2101 attgaaactg agggagccac agctcctctg acagagttac ttcactctag gaatgaaggt
2161 gtggcgacat atgcagctgc tgttttgttc cgaatgtctg aggacaagcc acaagattac
      SEQ ID NO: 55
2221 aagaaacggc tttcagttga gctgaccagc tctctcttca gaacagagcc aatggcttgg
2281 aatgagactg ctgatcttgg acttgatatt ggtgcccagg gagaaccctt tggatatcgc

```

ES 2 399 371 T3

SEQ ID NO: 56

2341 caggatgac ctagctatcg ttcttttcac tctggtggat atggccagga tgccttgggt
2401 atggacccca tgatggaaca tyagatgggt ggccaccacc ctggtgctga ctatccagtt

SEQ ID NO: 57

2461 gatgggctgc cagatctggg gcatgcccag gacctcatgg atgggctgcc tccaggtgac
2521 agcaatcagc tggcctgggt tgatactgac ctgtaaatca tcctttaggt aagaagtttt
2581 aaaaagccag tttgggtaaa atacttttac tctgcctaca gaacttcaga aagacttgggt
2641 tggtagggty ggagtgggtt aggcatttg taaatctgcc acaaaaacag gtatatactt
2701 taaaaggaga tgtcttggaa cattggaatg ttctcagatt tctggttgtt atgtgatcat
2761 gtgtggaagt tattaacttt aatgtttttt gccacagctt ttgcaactta atactcaaat
2821 gagtaacatt tgctgtttta aacattaata gcagcctttc tctccttata cagctgtatt
2881 gtctgaactt gcattgtgat tggcctgtag agttgctgag agggctcgag ggytgggctg
2941 gtatctcaga aagtgcctga cacactaacc aagctgagtt tcctatggga acaattgaag
3001 taaacttttt gttctgggtc tttttggtcg aggagttaaca atacaaatgg attttgggag

SEQ ID NO: 58

3061 tgactcaaga agtqaagaat gcacaagaat ggatcacaaq atggaattta gcaaacccta
SEQ ID NO: 73

3121 gccttgcttg ttaaaatttt tttttttttt ttttaagaat atctgtaatg gtactgactt
3181 tgcttgcctt gaagtagctc tttttttttt tttttttttt ttttttttgc agtaactgtt

SEQ ID NO: 88

3241 ttttaagtct ctgtagtgt taagttatag tgaatactgc tacagcaatt tctaattttt
SEQ ID NO: 103

3301 aagaattgag taatgggtga gaacactaat taattcataa tcaactctaat taattgtaat
3361 ctgaataaag tgtaacaatt gtgtagcctt tttgtataaa atagacaaat agaaatggt

SEQ ID NO: 118

3421 ccaattagtt tcccttttaa tatgcttaaa ataagcaggt ggatctattt catgtttttg
3481 atcaaaaact atttgggata tqtatgggta gggtaaatca gtaagaggtg ttatttggaa
3541 ccttggtttg gacagtttac cagttgcctt ttatcccaaa gttgttgtaa cctgctgtga
3601 tacgatgctt caagagaaaa tgcggttata aaaaatgggt cagaatttaa cttttaattc
3661 attcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa

Expresión de beta-catenina normalizada para GAPDH 24 horas después de la transfección en células SW480

Figura 2:

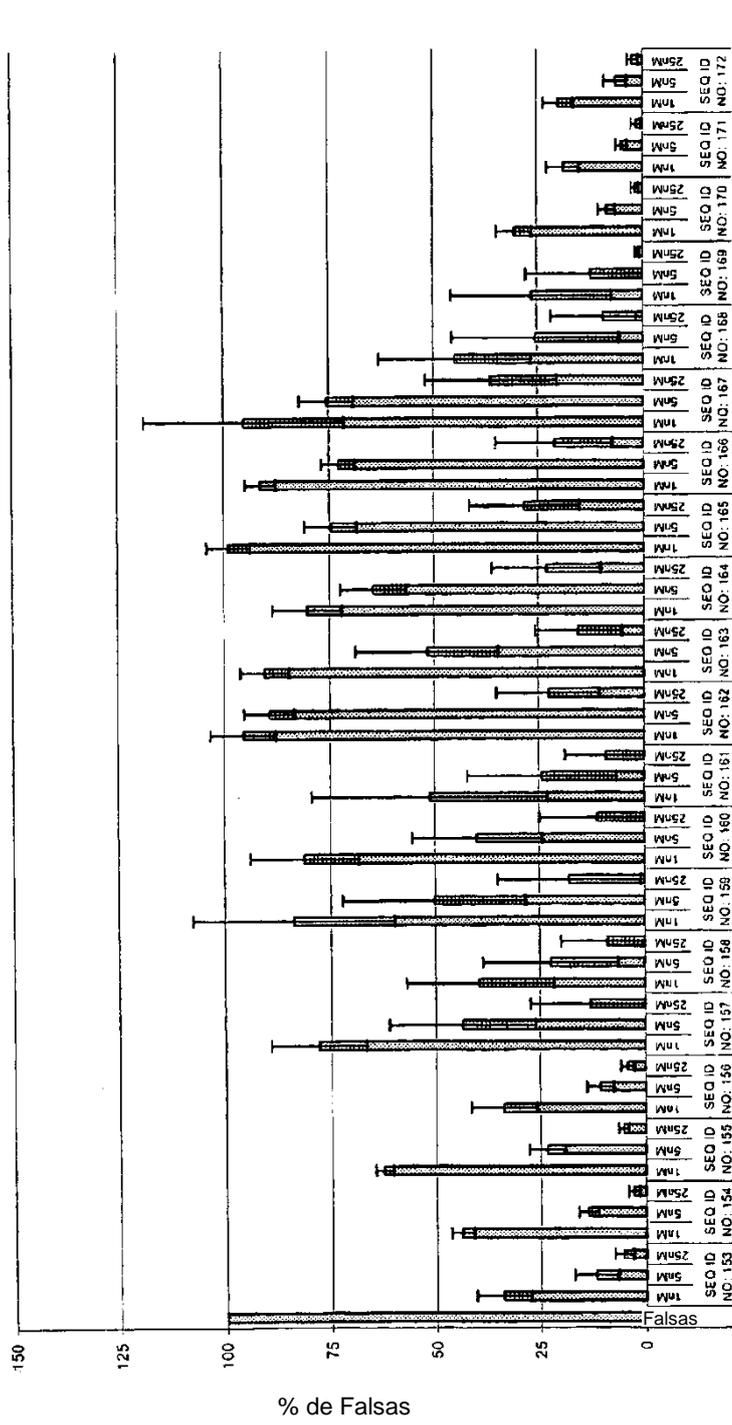


Figura 3:

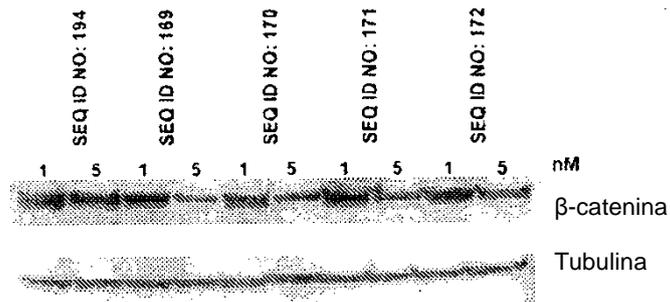
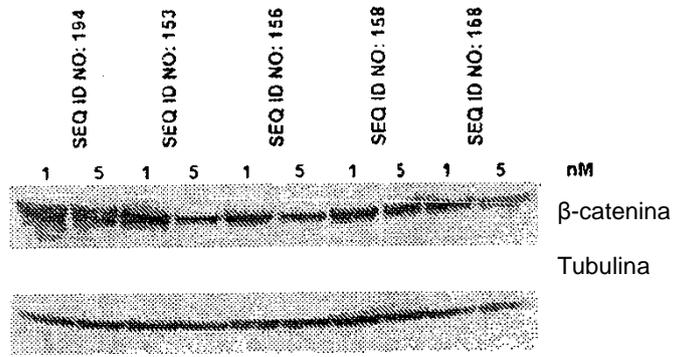
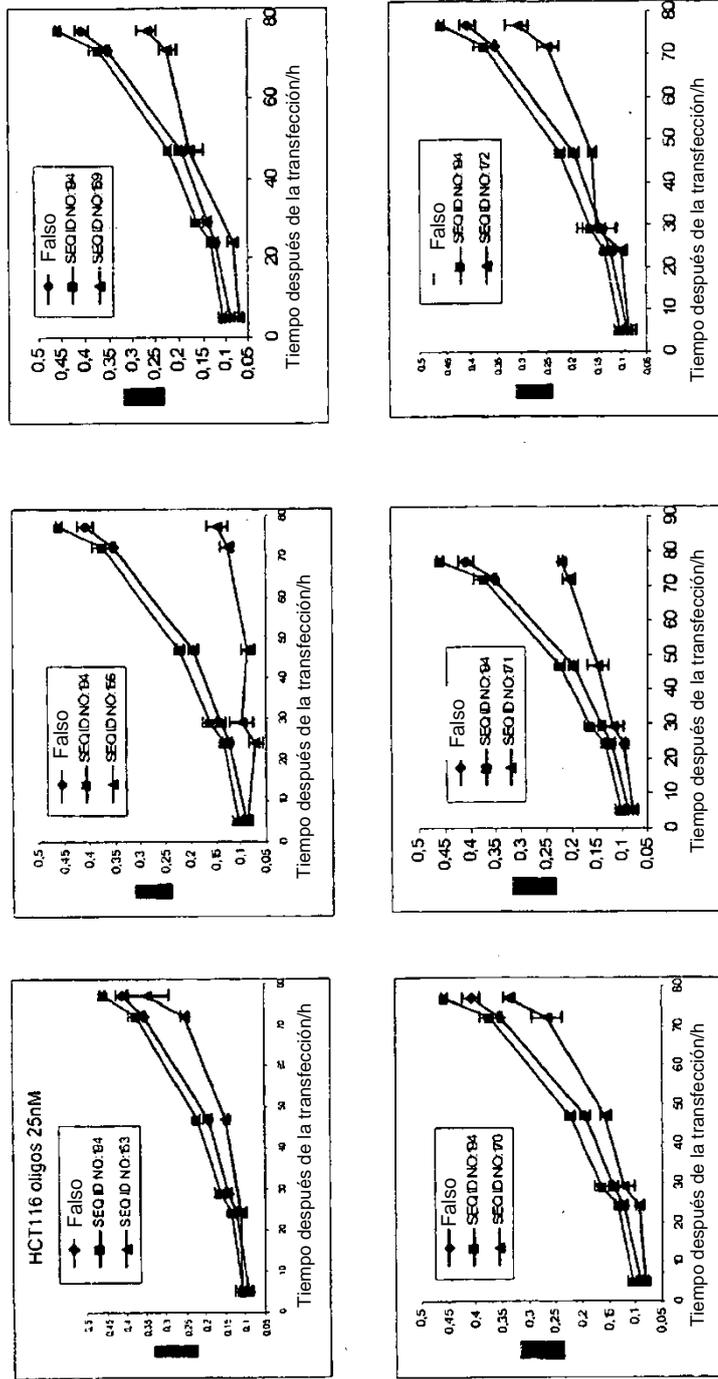


Figura 4:



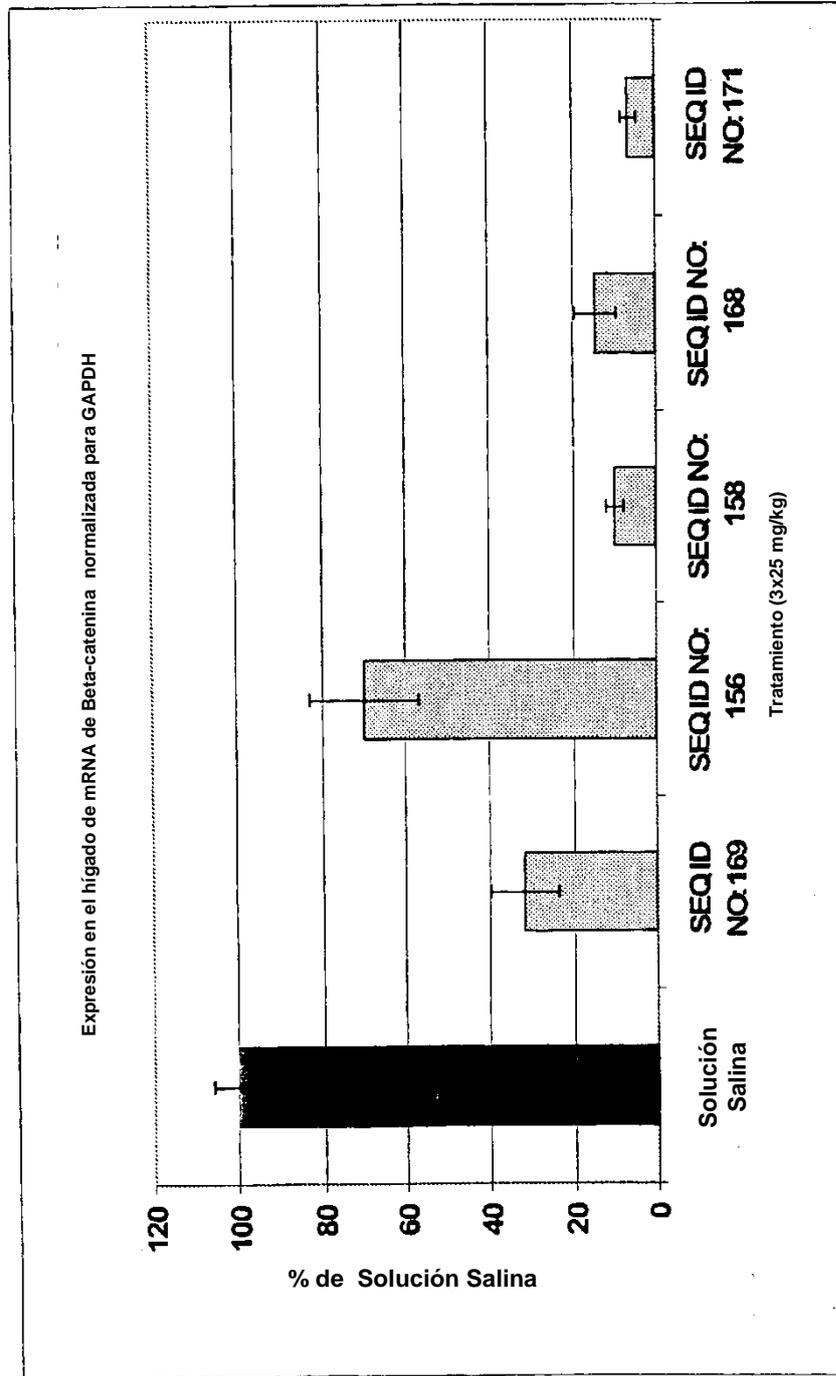


Figura 5: