

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 413 161**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 38/45 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2008 E 08844792 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.03.2013 EP 2209484**

54 Título: **Productos de combinación para tratar el cáncer**

30 Prioridad:

10.10.2007 EP 07301447

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.07.2013

73 Titular/es:

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA
RECHERCHE MEDICALE (INSERM) (50.0%)
101, rue de Tolbiac
75013 Paris, FR y
CAYLA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**BUSCAIL, LOUIS;
TIRABY, GÉRARD;
VERNEJOUL, FABIENNE;
SUSINI, CHRISTIANE y
DROCOURT, DANIEL**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 413 161 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

Productos de combinación para tratar el cáncer.

5 Campo de la invención

La invención se refiere al campo del cáncer, y en particular a nuevos productos, composiciones, vectores plasmídicos y métodos para la terapia contra el cáncer.

10 Antecedentes de la invención

Entre el cáncer, el cáncer pancreático es una de las neoplasias humanas más agresivas y devastadoras. Su agresividad se ilustra por el hecho de que el número de casos de cáncer pancreático estimados y el número de muertes relacionadas con cáncer pancreático son casi idénticos, con una tasa de supervivencia mínima de 5 años del 2%. El cáncer pancreático se encuentra en la quinta causa principal de muertes relacionadas con cáncer en los países occidentales. Hasta ahora, no es posible ni la detección temprana ni el tratamiento de la enfermedad avanzada: el 85% de las lesiones no son extirpables en el momento del diagnóstico, dando como resultado un tiempo de supervivencia medio de 4-5 meses.

Estas sombrías estadísticas son consistentes principalmente con la propensión de estos tumores a metastatizarse cuando son pequeños e indetectables, y a la resistencia intrínseca de las células de cáncer pancreático a agentes citotóxicos y a radioterapia.

Como otro cáncer agresivo, el carcinoma hepatocelular (hepatocarcinoma HCC) es la neoplasia primaria más habitual del hígado y el cuarto cáncer más habitual a nivel mundial, con una incidencia de 1.000.000 nuevos casos por año. Representa la 3ª causa de muerte por cáncer en el mundo. En Francia, como en otros países industrializados, su incidencia está aumentando de manera constante debido a la pandemia del virus de la hepatitis C. HCC se desarrolla a partir de cirrosis. La probabilidad de 5 años para que los pacientes cirróticos desarrollen HCC es casi 20%. Las tres modalidades terapéuticas curativas principales usadas actualmente para HCC es la extirpación hepática, la destrucción percutánea del tumor (radiofrecuencia) y el trasplante hepático ortotópico. Estas opciones se pueden usar en pacientes con el denominado HCC «pequeño» (< 5 cm), con buenos resultados (70% de supervivencia durante 5 años y < 25% de tasa de recurrencia para el trasplante). Desafortunadamente, tales opciones terapéuticas son sólo accesibles a menos del 50% de los pacientes diagnosticados con HCC. Por lo tanto, el grueso de los pacientes no se puede beneficiar de opciones terapéuticas curativas debido al gran tamaño tumoral o a la enfermedad hepática subyacente. Por estas razones, se necesitan nuevas modalidades de diagnóstico y terapias. Hasta ahora, ninguna quimioterapia es eficaz, y de este modo está indicada en HCC.

En consecuencia, existe una necesidad urgente de terapias para tratar cáncer, como cáncer pancreático o cáncer hepatocelular, y específicamente cáncer metastásico, que sean más eficaces que los regímenes actuales.

40 Sumario de la invención

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a productos que contienen:

- 45 (i) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína del receptor de somatostatina 2 humana (SST2) que presenta la secuencia SEC ID n°:1, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID n°:1, preferentemente de al menos 90%, como ejemplo de al menos 95%, y más preferentemente de al menos 99%,
- 50 (ii) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína desoxicitidina cinasa (DCK) humana que presenta la secuencia SEC ID n°:2, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID n°:2, preferentemente de al menos 90%, como ejemplo de al menos 95%, y más preferentemente de al menos 99%,
- 55 (iii) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína uridina monofosfato cinasa (UMK) humana que presenta la secuencia SEC ID n°:3, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID n°:3, preferentemente de al menos 90%, como ejemplo de al menos 95%, y más preferentemente de al menos 99%,
- 60 (iv) gemcitabina,

como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de cáncer en un sujeto.

65 En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende:

- (i) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína del receptor de somatostatina 2 humana (SST2) que presenta la secuencia SEC ID n°:1, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID n°:1, preferentemente de al menos 90%, como ejemplo de al menos 95%, y más preferentemente de al menos 99%,
- (ii) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína desoxicitidina cinasa (DCK) humana que presenta la secuencia SEC ID n°:2, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID n°:2, preferentemente de al menos 90%, como ejemplo de al menos 95%, y más preferentemente de al menos 99%,
- (iii) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína uridina monofosfato cinasa (UMK) humana que presenta la secuencia SEC ID n°:3, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID n°:3, preferentemente de al menos 90%, como ejemplo de al menos 99%,
- (iv) opcionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En un tercer aspecto, la presente invención se refiere finalmente a un vector plasmídico que presenta la secuencia SEC ID n°:11, y que comprende secuencias de ácido nucleico que codifican la proteína del receptor de somatostatina 2 de *Homo sapiens* y un polipéptido que comprende las dos proteínas, proteína desoxicitidina cinasa (dck) de *Homo sapiens* y proteína uridina monofosfato cinasa (umk) de *Homo sapiens*, enlazadas mediante el péptido FMDV (virus de la glosopeda) 2A escindible.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra el mapa esquemático del plásmido pNeo Sst2 DCK::UMK (7548 pb) (SEC ID n°: 11).

La figura 2 muestra el mapa esquemático del vector plasmídico pHDuoL4 LGFP-dckumk2A (7368 pb).

Descripción de las formas de realización preferidas

En el sentido de la presente solicitud, el cáncer es preferentemente un cáncer metastásico, como el cáncer pancreático y el carcinoma hepatocelular, y muy preferentemente un cáncer pancreático exocrino.

La metástasis corresponde al proceso mediante el cual un cáncer se extiende desde el lugar en el que surge en primer lugar como tumor primario hacia localizaciones distantes en el cuerpo. Puesto que este proceso es muy particular en la progresión del cáncer, generalmente es necesario usar un régimen específico a fin de inhibir la metástasis.

Se ha establecido que la inyección intratumoral combinada de un vector de expresión que codifica SST2, DCK y UMK, asociada con la administración de gemcitabina da como resultado una disminución amplia y sorprendente de los sitios de metástasis.

En consecuencia, y en una forma de realización preferida, la presente invención se refiere a la inhibición de la extensión de tumores, es decir, la inhibición de la metástasis tumoral.

El término sujeto se refiere a un mamífero, y preferentemente a un ser humano.

Como se usa en la presente memoria, gemcitabina se refiere a gemcitabina HCl/clorhidrato, comercializado por ELI LILLY con la marca GEMZAR®, que es un análogo nucleosídico que muestra actividad antitumoral y pertenece a un grupo general de fármacos quimioterapéuticos conocidos como antimetabolitos. La gemcitabina evita que las células produzcan ADN y ARN interfiriendo con la síntesis de ácidos nucleicos, deteniendo de este modo el crecimiento de células cancerosas y haciendo que mueran.

La gemcitabina, que se describe en la solicitud PCT Internacional WO 97/21719, es un análogo glucosídico sintético de citosina, que se describe químicamente como hidrocloreto de 1-(2'-desoxi-2',2'-difluoro-[beta]-D-ribofuranosil)-4-aminopirimidin-2-ona o isómero [beta] del monohidrocloreto de 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina.

Como se usa aquí, "porcentaje de identidad" entre dos secuencias de aminoácidos significa el porcentaje de aminoácidos idénticos, entre las dos secuencias a comparar, obtenido con el mejor alineamiento de dichas secuencias, siendo este porcentaje puramente estadístico, y estando las diferencias entre estas dos secuencias extendidas al azar a lo largo de las secuencias de aminoácidos. Como se usa aquí, "mejor alineamiento" o "alineamiento óptimo" significa el alineamiento para el que el porcentaje determinado de identidad (véase más abajo) es el mayor. La comparación de secuencias entre dos secuencias de aminoácidos se realiza habitualmente comparando estas secuencias que se han alineado previamente según el mejor alineamiento; esta comparación se realiza en segmentos de comparación a fin de identificar y comparar las regiones locales de similitud. El mejor

alineamiento de secuencias para llevar a cabo la comparación se puede realizar, además de manera manual, usando el algoritmo de homología global desarrollado por SMITH y WATERMAN (Ad. App. Math., vol. 2, p: 482, 1981), usando el algoritmo de homología local desarrollado por NEDDLEMAN y WUNSCH (J. Mol. Biol., vol. 48, p: 443, 1970), usando el método de similitudes desarrollado por PEARSON y LIPMAN (Proc. Natl. Acd. Sci. USA, vol. 85, p: 2444, 1988), usando software de ordenador que usan tales algoritmos (GAP, BESTFIT, BLAST P, BLAST N, FASTA, TFASTA en el Wisconsin Genetics software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI USA), usando los algoritmos de alineamientos múltiples MUSCLE (Edgar, Robert C., Nucleic Acids Research, vol. 32, p: 1792, 2004). Para obtener el mejor alineamiento local, se puede usar preferentemente el software BLAST, con la matriz BLOSUM 62, o la matriz PAM 30. El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se determina comparando estas dos secuencias alineadas óptimamente, siendo capaces las secuencias de aminoácidos de comprender adiciones o supresiones con respecto a la secuencia de referencia a fin de obtener el mejor alineamiento entre estas dos secuencias. El porcentaje de identidad se calcula determinando el número de posiciones idénticas entre estas dos secuencias, y dividiendo este número entre el número total de posiciones comparadas, y multiplicando el resultado obtenido por 100 para obtener el porcentaje de identidad entre estas dos secuencias.

Según otra realización preferida, la proteína desoxicitidina cinasa (dck) de *Homo sapiens* que presenta la secuencia SEC ID nº: 2, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID nº: 3, preferentemente de al menos 90%, como ejemplo de al menos 95%, y más preferentemente de al menos 99%, y la proteína uridina monofosfato cinasa (umk) de *Homo sapiens* que presenta la secuencia SEC ID nº: 3, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID nº: 3, preferentemente de al menos 90%, como ejemplo de al menos 95%, y más preferentemente de al menos 99%, están codificadas por una única secuencia de aminoácido.

Preferentemente, dicha al menos una secuencia de aminoácido codifica un polipéptido que comprende las dos proteínas, proteína desoxicitidina cinasa (dck) de *Homo sapiens* y proteína uridina monofosfato cinasa (umk) de *Homo sapiens*, enlazadas mediante el péptido FMDV (virus de la glosopeda) 2A escindible, polipéptido el cual tiene la secuencia SEC ID nº: 10.

Según todavía otra realización preferida, los ácidos nucleicos que codifican la proteína del receptor de somatostatina 2 (sst2), la proteína desoxicitidina cinasa (dck), y/o la proteína uridina monofosfato cinasa (umk), están enlazados operativamente a una secuencia de expresión génica, que dirige la expresión de ácidos nucleicos en una célula eucariota. La "secuencia de expresión génica" es cualquier secuencia nucleotídica reguladora, tal como una secuencia promotora o una combinación de promotor-potenciador, que facilita la transcripción y traducción eficientes del ácido nucleico al que está enlazada operativamente. La secuencia de expresión génica puede ser, por ejemplo, un promotor de mamífero o vírico, tal como un promotor constitutivo o inducible. En el plásmido diseñado para el presente concepto, los dos genes (sst2 y la fusión dck::umk) están bajo el control de dos promotores diferentes sensibles a hipoxia (la actividad basal de cada promotor aumenta drásticamente en el tumor debido al área hipóxica presente en tejidos de carcinoma pancreático): la región promotora del gen GRP78 (proteína 78 regulada por glucosa) y la región promotora del gen GRP94 (proteína 94 regulada por glucosa) para la fusión dck::umk y sst2, respectivamente. Los promotores constitutivos de mamíferos incluyen, pero no se limitan a, los promotores para los siguientes genes: hipoxantina fosforribosol transferasa (HPTR), adenosina desaminasa, piruvato cinasa, promotor de beta-actina, promotor de creatina cinasa muscular, promotor del factor de alargamiento humano, y otros promotores constitutivos. Los promotores víricos ejemplares que funcionan constitutivamente en células eucariotas incluyen, por ejemplo, promotores procedentes del virus del simio (por ejemplo, SV40), virus del papiloma, adenovirus, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), citomegalovirus (CMV), virus del sarcoma de Rous (RSV), virus de la hepatitis B (HBV), las repeticiones terminales largas (LTR) del virus de la leucemia de Moloney, y otros retrovirus, y el promotor de timidina cinasa del virus del herpes simple. Los expertos en la materia conocen otros promotores constitutivos. Los promotores útiles como secuencias de expresión génica de la invención también incluyen promotores inducibles. Los promotores inducibles se expresan en presencia de un agente inductor. Por ejemplo, el promotor de metalotioneína es inducido a promover la transcripción y traducción en presencia de ciertos iones metálicos. Los expertos en la materia conocen otros promotores inducibles.

En general, la secuencia de expresión génica debe incluir, como necesarias, secuencias no transcriptoras en 5' y no traductoras en 5' implicadas en la iniciación de la transcripción y traducción, respectivamente, tales como una caja TATA, secuencias de protección de los extremos, secuencia CAAT, y similares. Especialmente, tales secuencias no transcriptoras en 5' incluirán una región promotora que incluye una secuencia promotora para el control transcripcional del ácido nucleico del antígeno operablemente unido. Las secuencias de expresión génica incluyen opcionalmente secuencias potenciadoras o secuencias activadoras en 5', según se desee.

Como se usa aquí, se afirma que las secuencias de ácidos nucleicos que codifican las proteínas sst2, dck y umk, y la secuencia de expresión génica están "enlazadas operablemente" cuando están enlazadas covalentemente de tal forma para poner la expresión o transcripción y/o traducción de las secuencias que codifican las proteínas bajo la influencia o control de la secuencia de expresión génica. Se afirma que dos secuencias de ADN están enlazadas operablemente si la inducción de un promotor en la secuencia de expresión génica de 5' da como resultado la transcripción de las proteínas, y si la naturaleza del enlace entre las dos secuencias de ADN no (1) da como

resultado la introducción de una mutación de desplazamiento del marco, (2) interfiere con la capacidad de la región promotora para dirigir la transcripción del polipéptido de la invención, o (3) interfiere con la capacidad del transcrito de ARN correspondiente para ser traducido a una proteína.

El ácido nucleico que codifica las proteínas sst2, dck y umk se puede suministrar *in vivo* solo o en asociación con un vector. En su sentido más amplio, un "vector" es cualquier vehículo capaz de facilitar la transferencia del ácido nucleico que codifica las proteínas sst2, dck y umk a las células. Preferentemente, el vector transporta el ácido nucleico a las células con degradación relativa con respecto al grado de degradación que daría como resultado si el vector estuviera ausente. En general, los vectores útiles en la invención incluyen, pero no se limitan a, plásmidos, fagómidos, virus, otros vehículos derivados de fuentes víricas o bacterianas que se han manipulado mediante la inserción o incorporación de las secuencias de ácidos nucleicos antagonistas peptídicos.

Los vectores víricos preferidos para ciertas aplicaciones son los adenovirus y los virus adenoasociados, que son virus de ADN bicatenario que ya se han aceptado para uso humano en terapia génica. El virus adenoasociado se puede manipular para que sea deficiente en la replicación, y es capaz de infectar a un amplio abanico de tipos celulares y especies. Además, tiene ventajas tales como estabilidad al calor y a disolventes lipídicos, elevadas frecuencias de transducción en células de diversas estirpes, incluyendo células hematopoyéticas, y carece de la inhibición de superinfección, permitiendo así múltiples series de transducciones. Aparentemente, el virus adenoasociado se puede integrar en ADN celular humano de una manera específica del sitio, minimizando así la posibilidad de mutagénesis de inserción y variabilidad de la expresión génica insertada, característica de la infección retroviral. Además, las infecciones con virus adenoasociados de tipo salvaje han sido seguidas en cultivo tisular durante más de 100 pasadas en ausencia de presión selectiva, implicando que la integración genómica del virus adenoasociado es un suceso relativamente estable. El virus adenoasociado también puede funcionar de una manera extracromosómica.

El vector de ácido nucleico puede incluir marcadores seleccionables que son activos tanto en células bacterianas como en células de mamíferos.

Según todavía otra realización, las secuencias de ácidos nucleicos previamente descritas corresponden a "ADN desnudo" como plásmidos, cósmidos o fagómidos, preferentemente a al menos un vector plasmídico, y más preferentemente a un vector plasmídico.

Los vectores plasmídicos se han descrito ampliamente en la técnica y son bien conocidos por los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, SANBROOK et al., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Segunda Edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. En los últimos años recientes, se han usado vectores plasmídicos como vacunas de ADN para suministrar genes que codifican antígenos a células *in vivo*. Son particularmente ventajosos por esto debido a que no tienen los mismos problemas de seguridad que con muchos de los vectores víricos. Sin embargo, estos plásmidos, que tienen un promotor compatible con la célula hospedante, pueden expresar un péptido de un gen codificado operativamente en el plásmido. Algunos plásmidos usados habitualmente incluyen pBR322, pUC18, pUC19, pRC/CMV, SV40, y pBlueScript. Otros plásmidos son bien conocidos por los expertos en la materia. Adicionalmente, los plásmidos se pueden diseñar de forma personalizada usando enzimas de restricción y reacciones de ligación para eliminar y añadir fragmentos específicos de ADN. Los plásmidos se pueden suministrar mediante una variedad de vías parenterales, mucosales y tópicas. Por ejemplo, el plásmido de ADN se puede inyectar mediante vía intramuscular, intradérmica, subcutánea, u otras vías. También se puede administrar mediante pulverizaciones o gotas intranasales, supositorio rectal y oralmente. También se puede administrar en la epidermis o en una superficie mucosal usando una pistola génica. Los plásmidos se pueden proporcionar en una disolución acuosa, secos sobre partículas de oro, o en asociación con otro sistema de suministro de ADN, incluyendo, pero sin limitarse a, liposomas, dendrímeros, cocleatos y microencapsulamiento.

En otra realización preferida, el ácido nucleico que codifica las proteínas sst2, dck y umk está comprendido en un vector plasmídico.

Dicho vector plasmídico tiene la secuencia SEC ID nº:11, y comprende secuencias de ácidos nucleicos que codifican la proteína del receptor de somatostatina 2 de *Homo sapiens* y un polipéptido que comprende las dos proteínas, proteína desoxicitidina cinasa (dck) de *Homo sapiens* y proteína uridina monofosfato cinasa (umk) de *Homo sapiens*, enlazadas mediante el péptido FMDV (virus de la glosopeda) 2A escindible.

Tal "ADN desnudo" o vector o vectores plasmídicos están asociados preferentemente a polímeros catiónicos no lipídicos (WU y WU J. Biol. Chem., vol. 263, p: 14621-4, 1988), tales como polietilenimina (PEI) como se describe en el documento EP 0770140, o liposomas (BRIGHMAN et al., Am. J. Med. Sci., vol. 298, p: 278-81, 1989), para formar complejos que potencian la captación celular.

Ventajosamente, tal ADN desnudo o vector o vectores plasmídicos están asociados con polímeros catiónicos no lipídicos, preferentemente con polietilenimina (PEI) como se describe en el documento EP 0770140.

En una realización específica, los productos de la invención comprenden además al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La frase “farmacéuticamente aceptable” se refiere a entidades moleculares y composiciones que son fisiológicamente aceptables y no producen típicamente una reacción alérgica o desfavorable similar, tal como malestar gástrico, mareo y similar, cuando se administran a un ser humano. Preferentemente, como se usa aquí, la expresión “farmacéuticamente aceptable” significa aceptado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal, o dado a conocer en la U.S. Pharmacopeia u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y más particularmente en seres humanos.

El término “vehículo” se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluyendo aquellos de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tal como aceite de cacahuete, aceite de haba de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similar. El agua o disolución salina acuosa y las disoluciones acuosas de dextrosa y de glicerol se emplean preferentemente como vehículos, particularmente para disoluciones inyectables. Los vehículos farmacéuticos adecuados se describen en “Remington’s Pharmaceutical Sciences” por E.W. Martin.

Las secuencias de ácidos nucleicos o los vectores de ácidos nucleicos o gemcitabina se pueden solubilizar en un tampón o agua, o se pueden incorporar en emulsiones y microemulsiones. Los tampones adecuados incluyen, pero no se limitan a, disolución salina tamponada con fosfato libre de $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ (PBS), disolución salina tamponada con fosfato (PBS), disolución salina normal (NaCl 150 mM en agua), tampón Tris, y tensioactivos.

Según todavía otra realización específica, las secuencias de ácidos nucleicos descritas previamente se administran mediante inyección intratumoral, preferentemente mediante inyección de ultrasonidos endoscópica intratumoral (es decir, ecoendoscopia), como se describe en HECHT et al. (Clin. Cancer Res., vol. 9, p: 555-61, 2003) como ejemplo.

Según otra realización específica, la gemcitabina se administra por vía intravenosa.

Según la presente invención, una “cantidad eficaz” de una composición es aquella que es suficiente para lograr un efecto biológico deseado, en este caso producir apoptosis en células tumorales e inhibir la metástasis. Se entiende que la dosis eficaz dependerá de la edad, sexo, salud y peso del receptor, del tipo de tratamiento concurrente, si existe, frecuencia de tratamiento, y de la naturaleza del efecto deseado. Sin embargo, la dosis preferida se puede adecuar al sujeto individual, como se entiende y es determinable por un experto en la materia, sin experimentación innecesaria.

Como ejemplo, una cantidad eficaz de un vector plasmídico que tiene una secuencia SEC ID nº:11 para una inyección intratumoral depende del volumen tumoral, y comprende entre 1 y 1.000 μg de ADN por cm^3 de tumor, preferentemente entre 5 y 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, más preferentemente entre 8 y 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Como ejemplo, una cantidad eficaz de gemcitabina corresponde a una administración de gemcitabina a 1000 mg/cm^2 (de superficie del paciente) por día. Tal administración se realiza una vez a la semana durante cuatro semanas consecutivas.

Sorprendentemente, se ha establecido que la inyección intratumoral del plásmido que presenta la secuencia SEC ID nº:11 permite obtener una regresión tumoral en combinación con una dosis de gemcitabina menor que la dosis usada para el tratamiento convencional de cáncer pancreático (2/3 de la dosis normal de gemcitabina).

De este modo, en una realización preferida, una cantidad eficaz de gemcitabina corresponde a una dosis igual o menor que 750 mg/m^2 por día. Tal administración se realiza una vez a la semana durante cuatro semanas consecutivas, como antes.

Preferentemente, una cantidad eficaz de gemcitabina corresponde a una dosis de 500 mg/m^2 por día, y una vez a la semana durante cuatro semanas consecutivas, como antes.

A continuación, la invención se describe con mayor detalle haciendo referencia a secuencias de ácidos nucleicos y a los ejemplos. No obstante, no se pretende ninguna limitación de la invención por los detalles de los ejemplos. Antes bien, la invención pertenece a cualquier forma de realización, que comprende detalles que no están mencionados explícitamente en la presente memoria en los ejemplos, pero que resulta evidente para el experto en la materia.

Ejemplos

I. Tratamiento de cáncer de páncreas

1) La combinación de sst2 y DCK:UMK/gemcitabina sensibiliza a las células de cáncer pancreático para morir *in vitro*:

Unas células BxPC-3 y MiaPaca-2, derivadas de carcinoma ductal pancreático humano (DELESQUE et al., Cancer Research, vol. 57, p: 956-962, 1997) se mantuvieron en medio RPMI 1640 (INVITROGEN) suplementado con 5% de suero fetal de ternera (FCS; INVITROGEN), fungizona (INVITROGEN), antibióticos (estreptomycin, penicilina, SIGMA), L-glutamina (INVITROGEN), y un reactivo anti-micoplásmico (PLASMOCIN™, CAYLA).

Se sembraron células de cáncer pancreático humano en placas de 35 mm de diámetro a 50×10^3 células/ml (2 ml por placa) en RPMI 1640 que contiene 5% de FCS. Después de una fase de adhesión de 12 h, las células se transfectaron con 5 µg de un vector simulado o con 5 µg de plásmido que comprende un ADNc de fusión DCK:UMK que comprende el péptido FMDV 2A de autoescisión insertado entre los ADNc de DCK y UMK con (pHNeo Sst2 DCK::UMK; figura 1) o sin (pHDuo14 LGFP DCK-UMK; figura 2) el ADNc de sst2 humana (CAYLA) usando polímeros lineales de etilenimina (PEI o L-PEI) con una masa molecular media de 22 kDa (POLYPLUS-Transfection) (relación de nitrógeno de PEI a fosfato de ADN N/P = 8 a 10). Los complejos de PEI-ADN se prepararon en glucosa al 5% (p/v). Después de 24 h de cultivo celular en RPMI 1640 que contiene 5% de FCS, el medio se sustituyó por medio reciente suplementado o no con concentraciones crecientes de gemcitabina (0,05 a 5 µg/ml), y se llevó a cabo el recuento celular después de 48 h de cultivo.

Los resultados muestran que la expresión combinada de UMK, DCK y SST2 sensibiliza a las células tumorales frente a gemcitabina.

2) La combinación de sst2 y DCK:UMK/gemcitabina inhibe el crecimiento de tumores pancreáticos *in vivo*:

Las células PC1.0, derivadas de un carcinoma ductal pancreático inducido por N-nitrosobis(2-oxopropil)amina en hámsters dorados sirios (BENALI et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 97, p: 9180-9185, 2000), se mantuvieron en medio RPMI 1640 (INVITROGEN) suplementado con 5% de suero fetal de ternera (FCS; INVITROGEN), fungizona (INVITROGEN), antibióticos (estreptomycin, penicilina, SIGMA), L-glutamina (INVITROGEN), y un reactivo anti-micoplásmico (PLASMOCIN™, CAYLA).

Para la transfección estable, las células PC1.0 se colocaron en placas de 60 mm de diámetro (2×10^5 células por placa) en 4 ml de RPMI 1640 que contiene 5% de FCS. Después de una fase de adhesión de 12 h, las células se transfectaron con 5 µg del vector simulado (VERNEJOUL et al., Cancer Research, vol. 62, p: 6124-31, 2002), de plásmido que comprende un ADNc de fusión DCK:UMK que comprende el péptido FMDV 2A de autoescisión insertado entre los ADNc de DCK y UMK (pHNeo Sst2 DCK::UMK; figura 1) o sin (pHDuo14 LGFP DCK-UMK; figura 2) el ADNc de sst2 humana (CAYLA) usando una molécula catiónica lipídica (Lyo-Vec™, CAYLA) (relación lípido a ADN p/p = 1:6). Se seleccionaron poblaciones clonales estables en presencia de 0,4 a 0,6 mg/ml de zeocina. Los transfectantes estables se cultivaron entonces en medio RPMI 1640 que contiene 5% de SVF y 0,3 mg/ml de zeocina.

Se aclimataron hámsters dorados sirios (GANNAT) machos de cinco semanas en una habitación de temperatura controlada bajo un programa de 12 h de luz/12 h de oscuridad, y recibieron una dieta peletizada y agua.

Células PC1.0 o poblaciones mixtas de PC1.0.DCK:UMK:SST2 y células de tipo salvaje PC1.0 se implantaron ortotópicamente en hámsters. De forma breve, con anestesia de pentobarbital y tras una pequeña laparotomía, se inyectaron 5×10^5 células PC1.0 resuspendidas en 0,1 ml de medio RPMI 1640 libre de FCS en la cola del páncreas bajo microscopio por medio de un conjunto de catéter de linfografía 29G estéril.

En el día 7, durante la fase exponencial de tumores pancreáticos primarios, los animales se trataron con gemcitabina o vehículo, NaCl al 0,9%. La gemcitabina se administró intraperitonealmente tres veces a una dosis de 120 mg/kg/día en los días 9, 11 y 13 tras la implantación.

En el día 15, los resultados han mostrado una recesión completa del tumor para los animales que expresan DCK, UMK y SST2, mientras que la gemcitabina solamente ralentiza la progresión tumoral en los animales que no expresan estas proteínas.

3) Transferencia *in vivo* de la combinación de sst2 y DCK:UMK/gemcitabina

Se implantaron ortotópicamente células PC1.0 en hámster como se describe previamente. Ocho días más tarde, tras laparotomía mediana con anestesia, se midió el volumen del tumor y se llevó a cabo una transferencia génica intratumoral usando PEI de 22 kDa *in vivo* (relación nitrógeno de PEI a fosfato de ADN N/P = 10) en glucosa al 5%. Los complejos de PEI/ADN se inyectaron entonces en tumores que crecen exponencialmente usando un conjunto de catéter de linfografía de calibre 29 estéril con un caudal de 25 µl/min. Se inyectó un total de 25 a 50 µg de vectores de expresión de DCK:UMK o DCK:UMK:SST2. A los animales se les inyectó entonces i.p. con NaCl al 0,9% o gemcitabina (80 a 120 mg/kg/día cada tres días). Los volúmenes y progresión tumorales se evaluaron tras el sacrificio en el día 15 tras la implantación de las células.

Los resultados de la progresión tumoral tras la expresión génica *ex vivo* e *in vivo* y de la evolución de la metástasis se dan en las siguientes tablas I y II.

Tabla I: Progresión del tumor

	Progresión del tumor (porcentaje)
Sin ADN, Sin Gemcitabina	+ 800 a 1060
Gemcitabina, Sin ADN	+ 150 a 378
DCK:UMK:SST2	+200
DCK:UMK, Gemcitabina	-60
DCK:UMK:SST2, Gemcitabina	-15 a -30

5

Tabla II: Número de sitios metastásicos

	Número de sitios metastásicos (porcentaje)
Sin ADN, Sin Gemcitabina (control)	100
DCK:UMK	82
DCK:UMK:SST2	100
DCK:UMK, Gemcitabina	47,6
DCK:UMK:SST2, Gemcitabina	12,2

Los resultados establecen que la expresión de la fusión DCK:UMK en algunas células tumorales, en combinación con una administración de gemcitabina, da como resultado la regresión tumoral (tabla I).

10

Los resultados también establecieron que la inyección intratumoral de la fusión DCK::UMK y SST2 en combinación con gemcitabina da como resultado la regresión tumoral incluso a una dosis menor que la aplicada normalmente: 120 mg/kg aplicada en hámster corresponde a una dosis de 1000 mg/m² en ser humano. De este modo, 80 mg/kg de gemcitabina en hámster (que también indujo una regresión tumoral cuando se coadministró con DCK::UMK y SST2) corresponde a 2/3 de la dosis normal aplicada en el ser humano. La inyección intratumoral de DCK::UMK y SST2 permite reducir la dosis de gemcitabina sin alterar el efecto antitumoral.

15

Los resultados también establecieron que la expresión de SST2 (DCK:UMK:SST2 sin gemcitabina; tabla II) no inhibe la metástasis tumoral, mientras que la expresión combinada de DCK:UMK con el tratamiento con gemcitabina inhibe la metástasis tumoral en dos veces. Inesperadamente, la coexpresión de SST2 con DCK:UMK asociado con el tratamiento con gemcitabina da como resultado una potente inhibición de la metástasis tumoral – es decir, una reducción de casi diez veces.

20

Finalmente, los resultados han establecido que la inyección de plásmidos nunca ha dado como resultado una reacción alérgica inmediata o retrasada en ninguno de los animales tratados. Además, la administración intratumoral del vector terapéutico que coexpresa SST2 y DCK:UMK no da como resultado en ningún animal ninguna toxicidad general – es decir, supervivencia -, ninguna toxicidad regional – es decir, estómago, hígado, bazo o peritoneo – o ninguna toxicidad local – es decir, páncreas adyacente normal -.

25

4) Terapia génica humana usando la combinación de sst2 y DCK:UMK/gemcitabina

30

Se seleccionaron 24 pacientes que sufren cáncer pancreático por adenocarcinoma no estirpable.

Se complejaron 125 µg, 250 µg, 500 µg, y 1 mg de plásmido pHNeo Sst2 DCK::UMK (CAYLA, SEC ID nº: 11) en glucosa al 5% con un derivado de polietilenimina lineal (jetPEI™, POLYPLUS, relación nitrógeno de PEI a fosfato de ADN N/P = 10) según la instrucción del fabricante. Los complejos resultantes se liofilizaron en viales de 5 ml. Antes de la inyección al paciente, los complejos se reconstituyeron en 2,5 ml de agua estéril para inyección, y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 10 minutos antes del uso.

35

Cuatro grupos de 6 pacientes se sometieron a una administración intratumoral de los complejos que comprenden respectivamente 125 µg, 250 µg, 500 µg, y 1 mg de ADN (dosis en aumento partiendo de la dosis más baja, es decir, los primeros 6 pacientes recibieron 125 µg, los 6 nuevos pacientes 250 µg, etc.). Dicha etapa de administración se realiza mediante inyección ultrasónica endoscópica, que se lleva a cabo en el día uno.

40

En el día 3, a los pacientes tratados se les perfunde una administración intravenosa de 1000 mg/m² de gemcitabina (GEMZAR®) durante 30 minutos. Se realizan perfusiones similares en los días 10, 17 y 24 tras la administración intratumoral del plásmido.

45

Se establece para todos los pacientes la evolución diaria de la progresión tumoral, y, en el día 29, se realiza una segunda administración intratumoral del plásmido en los cuatro grupos de 6 pacientes como se describe anteriormente.

50

En los días 31, 38 y 45, a los pacientes tratados se les perfunde una administración intravenosa de gemcitabina como se describe previamente.

Se establece la evolución diaria de la progresión tumoral para todos los pacientes hasta el día 60.

La media del volumen tumoral del páncreas humano es $32 \text{ cm}^3 \pm 8$. Considerando los experimentos realizados en animales y en un tumor de 30 cm^3 , la dosis de $125 \text{ } \mu\text{g}$ de ADN ($4,17 \text{ } \mu\text{g}/\text{cm}^3$) debería ser ineficaz para inhibir la progresión tumoral, mientras que la dosis de $250 \text{ } \mu\text{g}$ de ADN ($8,35 \text{ } \mu\text{g}/\text{cm}^3$) y mayor debería ser eficaz para tratar cáncer de páncreas y para inhibir la metástasis del cáncer de páncreas.

II. Tratamiento de otros cánceres

1) La combinación de sst2 y DCK:UMK/gemcitabina sensibiliza a células de carcinoma hepatocelular y de hepatoma para morir *in vitro*:

Unas células HuH7, derivadas de carcinoma hepatocelular humano, y células HepG2, derivadas de hepatoma, se cultivaron en placas de 35 mm de diámetro a 50×10^3 células/ml (2 ml por placa) en medio de cultivo DMEM. Después de una fase de adhesión de 12 h, las células se transfectaron con $5 \text{ } \mu\text{g}$ de un vector simulado o con $5 \text{ } \mu\text{g}$ de plásmido que comprende un ADNc de fusión DCK:UMK que comprende el péptido FMDV 2A de autoescisión insertado entre los ADNc de DCK y UMK con (pHNeo Sst2 DCK::UMK; figura 1) el ADNc de sst2 humana (CAYLA) usando polímeros lineales de etilenimina (PEI o L-PEI) con una masa molecular media de 22 kDa (POLYPLUS-Transfection) (relación nitrógeno de PEI a fosfato de ADN N/P = 8 a 10). Los complejos de PEI-ADN se prepararon en glucosa al 5% (p/v). Después de 24 h de cultivo celular en DMEM que contiene 10% de FCS, el medio se substituyó por medio reciente suplementado o no con cantidades crecientes de gemcitabina (0,05 a $5 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}$), y se llevó a cabo el recuento celular después de 48 h de cultivo.

Los resultados muestran que la expresión combinada de UMK, DCK y SST2 sensibiliza drásticamente a las células tumorales derivadas de HCC y de hepatoma frente a gemcitabina.

Listado de secuencias

<110> INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM)
CAYLA
BUSCAIL, Louis
TIRABY, Gerard
VERNEJOUL, Fabienne
SUSINI, Christiane
DROCOURT, Daniel

<120> PRODUCTOS DE COMBINACIÓN PARA TRATAR EL CÁNCER

<130> 353524D25724

<150> EP 07301447.1

<151> 10/10/2007

<160> 11

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 369

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

ES 2 413 161 T3

Met	Asp	Met	Ala	Asp	Glu	Pro	Leu	Asn	Gly	Ser	His	Thr	Trp	Leu	Ser
1				5					10					15	
Ile	Pro	Phe	Asp	Leu	Asn	Gly	Ser	Val	Val	Ser	Thr	Asn	Thr	Ser	Asn
			20					25					30		
Gln	Thr	Glu	Pro	Tyr	Tyr	Asp	Leu	Thr	Ser	Asn	Ala	Val	Leu	Thr	Phe
		35					40					45			
Ile	Tyr	Phe	Val	Val	Cys	Ile	Ile	Gly	Leu	Cys	Gly	Asn	Thr	Leu	Val
	50					55					60				
Ile	Tyr	Val	Ile	Leu	Arg	Tyr	Ala	Lys	Met	Lys	Thr	Ile	Thr	Asn	Ile
65					70					75					80
Tyr	Ile	Leu	Asn	Leu	Ala	Ile	Ala	Asp	Glu	Leu	Phe	Met	Leu	Gly	Leu
				85					90					95	
Pro	Phe	Leu	Ala	Met	Gln	Val	Ala	Leu	Val	His	Trp	Pro	Phe	Gly	Lys
			100					105					110		
Ala	Ile	Cys	Arg	Val	Val	Met	Thr	Val	Asp	Gly	Ile	Asn	Gln	Phe	Thr
		115					120					125			

ES 2 413 161 T3

Ser Ile Phe Cys Leu Thr Val Met Ser Ile Asp Arg Tyr Leu Ala Val
130 135 140

Val His Pro Ile Lys Ser Ala Lys Trp Arg Arg Pro Arg Thr Ala Lys
145 150 155 160

Met Ile Thr Met Ala Val Trp Gly Val Ser Leu Leu Val Ile Leu Pro
165 170 175

Ile Met Ile Tyr Ala Gly Leu Arg Ser Asn Gln Trp Gly Arg Ser Ser
180 185 190

Cys Thr Ile Asn Trp Pro Gly Glu Ser Gly Ala Trp Tyr Thr Gly Phe
195 200 205

Ile Ile Tyr Thr Phe Ile Leu Gly Phe Leu Val Pro Leu Thr Ile Ile
210 215 220

Cys Leu Cys Tyr Leu Phe Ile Ile Ile Lys Val Lys Ser Ser Gly Ile
225 230 235 240

Arg Val Gly Ser Ser Lys Arg Lys Lys Ser Glu Lys Lys Val Thr Arg
245 250 255

Met Val Ser Ile Val Val Ala Val Phe Ile Phe Cys Trp Leu Pro Phe
260 265 270

Tyr Ile Phe Asn Val Ser Ser Val Ser Met Ala Ile Ser Pro Thr Pro
275 280 285

Ala Leu Lys Gly Met Phe Asp Phe Val Val Val Leu Thr Tyr Ala Asn
290 295 300

Ser Cys Ala Asn Pro Ile Leu Tyr Ala Phe Leu Ser Asp Asn Phe Lys
305 310 315 320

Lys Ser Phe Gln Asn Val Leu Cys Leu Val Lys Val Ser Gly Thr Asp
325 330 335

Asp Gly Glu Arg Ser Asp Ser Lys Gln Asp Lys Ser Arg Leu Asn Glu
340 345 350

Thr Thr Glu Thr Gln Arg Thr Leu Leu Asn Gly Asp Leu Gln Thr Ser
355 360 365

Ile

ES 2 413 161 T3

<210> 2

<211> 260

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 2

```

Met Ala Thr Pro Pro Lys Arg Ser Cys Pro Ser Phe Ser Ala Ser Ser
1           5           10           15

Glu Gly Thr Arg Ile Lys Lys Ile Ser Ile Glu Gly Asn Ile Ala Ala
20           25           30

Gly Lys Ser Thr Phe Val Asn Ile Leu Lys Gln Leu Cys Glu Asp Trp
35           40           45

Glu Val Val Pro Glu Pro Val Ala Arg Trp Cys Asn Val Gln Ser Thr
50           55           60

Gln Asp Glu Phe Glu Glu Leu Thr Met Ser Gln Lys Asn Gly Gly Asn
65           70           75           80

Val Leu Gln Met Met Tyr Glu Lys Pro Glu Arg Trp Ser Phe Thr Phe
85           90           95

Gln Thr Tyr Ala Cys Leu Ser Arg Ile Arg Ala Gln Leu Ala Ser Leu
100          105          110

Asn Gly Lys Leu Lys Asp Ala Glu Lys Pro Val Leu Phe Phe Glu Arg
115          120          125

Ser Val Tyr Ser Asp Arg Tyr Ile Phe Ala Ser Asn Leu Tyr Glu Ser
130          135          140

Glu Cys Met Asn Glu Thr Glu Trp Thr Ile Tyr Gln Asp Trp His Asp
145          150          155          160

Trp Met Asn Asn Gln Phe Gly Gln Ser Leu Glu Leu Asp Gly Ile Ile
165          170          175

Tyr Leu Gln Ala Thr Pro Glu Thr Cys Leu His Arg Ile Tyr Leu Arg
180          185          190

Gly Arg Asn Glu Glu Gln Gly Ile Pro Leu Glu Tyr Leu Glu Lys Leu
195          200          205

```

ES 2 413 161 T3

His Tyr Lys His Glu Ser Trp Leu Leu His Arg Thr Leu Lys Thr Asn
210 215 220

Phe Asp Tyr Leu Gln Glu Val Pro Ile Leu Thr Leu Asp Val Asn Glu
225 230 235 240

Asp Phe Lys Asp Lys Tyr Glu Ser Leu Val Glu Lys Val Lys Glu Phe
245 250 255

Leu Ser Thr Leu
260

<210> 3

<211> 228

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 3

Met Leu Ser Arg Cys Arg Ser Gly Leu Leu His Val Leu Gly Leu Ser
1 5 10 15

Phe Leu Leu Gln Thr Arg Arg Pro Ile Leu Leu Cys Ser Pro Arg Leu
20 25 30

Met Lys Pro Leu Val Val Phe Val Leu Gly Gly Pro Gly Ala Gly Lys
35 40 45

Gly Thr Gln Cys Ala Arg Ile Val Glu Lys Tyr Gly Tyr Thr His Leu
50 55 60

Ser Ala Gly Glu Leu Leu Arg Asp Glu Arg Lys Asn Pro Asp Ser Gln
65 70 75 80

Tyr Gly Glu Leu Ile Glu Lys Tyr Ile Lys Glu Gly Lys Ile Val Pro
85 90 95

Val Glu Ile Thr Ile Ser Leu Leu Lys Arg Glu Met Asp Gln Thr Met
100 105 110

Ala Ala Asn Ala Gln Lys Asn Lys Phe Leu Ile Asp Gly Phe Pro Arg
115 120 125

Asn Gln Asp Asn Leu Gln Gly Trp Asn Lys Thr Met Asp Gly Lys Ala
130 135 140

Asp Val Ser Phe Val Leu Phe Phe Asp Cys Asn Asn Glu Ile Cys Ile

ES 2 413 161 T3

145		150		155		160
Glu Arg Cys Leu Glu Arg Gly Lys Ser Ser Gly Arg Ser Asp Asp Asn	165		170		175	
Arg Glu Ser Leu Glu Lys Arg Ile Gln Thr Tyr Leu Gln Ser Thr Lys	180		185		190	
Pro Ile Ile Asp Leu Tyr Glu Glu Met Gly Lys Val Lys Lys Ile Asp	195		200		205	
Ala Ser Lys Ser Val Asp Glu Val Phe Asp Glu Val Val Gln Ile Phe	210		215		220	
Asp Lys Glu Gly	225					

<210> 4

<211> 346

5 <212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 4

Met Glu Met Ser Ser Glu Gln Leu Asn Gly Ser Gln Val Trp Val Ser	1	5	10	15
Ser Pro Phe Asp Leu Asn Gly Ser Leu Gly Pro Ser Asn Gly Ser Asn	20	25	30	
Gln Thr Glu Pro Tyr Tyr Asp Met Thr Ser Asn Ala Val Leu Thr Phe	35	40	45	
Ile Tyr Phe Val Val Cys Val Val Gly Leu Cys Gly Asn Thr Leu Val	50	55	60	
Ile Tyr Val Ile Leu Arg Tyr Ala Lys Met Lys Thr Ile Thr Asn Ile	65	70	75	80
Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Glu Leu Phe Met Leu Gly Leu	85	90	95	
Pro Phe Leu Ala Met Gln Val Ala Leu Val His Trp Pro Phe Gly Lys	100	105	110	
Ala Ile Cys Arg Val Val Met Thr Val Asp Gly Ile Asn Gln Phe Thr	115	120	125	

ES 2 413 161 T3

Ser Ile Phe Cys Leu Thr Val Met Ser Ile Asp Arg Tyr Leu Ala Val
130 135 140

Val His Pro Ile Lys Ser Ala Lys Trp Arg Arg Pro Arg Thr Ala Lys
145 150 155 160

Met Ile Asn Val Ala Val Trp Cys Val Ser Leu Leu Val Ile Leu Pro
165 170 175

Ile Met Ile Tyr Ala Gly Leu Arg Ser Asn Gln Trp Gly Arg Ser Ser
180 185 190

Cys Thr Ile Asn Trp Pro Gly Glu Ser Gly Ala Trp Tyr Thr Gly Phe
195 200 205

Ile Ile Tyr Ala Phe Ile Leu Gly Phe Leu Val Pro Leu Thr Ile Ile
210 215 220

Cys Leu Cys Tyr Leu Phe Ile Ile Ile Lys Val Lys Ser Ser Gly Ile
225 230 235 240

Arg Val Gly Ser Ser Lys Arg Lys Lys Ser Glu Lys Lys Val Thr Arg
245 250 255

Met Val Ser Ile Val Val Ala Val Phe Ile Phe Cys Trp Leu Pro Phe
260 265 270

Tyr Ile Phe Asn Val Ser Ser Val Ser Val Ala Ile Ser Pro Thr Pro
275 280 285

Ala Leu Lys Gly Met Phe Asp Phe Val Val Ile Leu Thr Tyr Ala Asn
290 295 300

Ser Cys Ala Asn Pro Ile Leu Tyr Ala Phe Leu Ser Asp Asn Phe Lys
305 310 315 320

Lys Ser Phe Gln Asn Val Leu Cys Leu Val Lys Ala Asp Asn Ser Gln
325 330 335

Ser Gly Ala Glu Asp Ile Ile Ala Trp Val
340 345

<210> 5

<211> 369

<212> PRT

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 5

ES 2 413 161 T3

Met	Glu	Leu	Thr	Ser	Glu	Gln	Phe	Asn	Gly	Ser	Gln	Val	Trp	Ile	Pro	1	5	10	15
Ser	Pro	Phe	Asp	Leu	Asn	Gly	Ser	Leu	Gly	Pro	Ser	Asn	Gly	Ser	Asn	20	25	30	
Gln	Thr	Glu	Pro	Tyr	Tyr	Asp	Met	Thr	Ser	Asn	Ala	Val	Leu	Thr	Phe	35	40	45	
Ile	Tyr	Phe	Val	Val	Cys	Val	Val	Gly	Leu	Cys	Gly	Asn	Thr	Leu	Val	50	55	60	
Ile	Tyr	Val	Ile	Leu	Arg	Tyr	Ala	Lys	Met	Lys	Thr	Ile	Thr	Asn	Ile	65	70	75	80
Tyr	Ile	Leu	Asn	Leu	Ala	Ile	Ala	Asp	Glu	Leu	Phe	Met	Leu	Gly	Leu	85	90	95	
Pro	Phe	Leu	Ala	Met	Gln	Val	Ala	Leu	Val	His	Trp	Pro	Phe	Gly	Lys	100	105	110	
Ala	Ile	Cys	Arg	Val	Val	Met	Thr	Val	Asp	Gly	Ile	Asn	Gln	Phe	Thr	115	120	125	
Ser	Ile	Phe	Cys	Leu	Thr	Val	Met	Ser	Ile	Asp	Arg	Tyr	Leu	Ala	Val	130	135	140	
Val	His	Pro	Ile	Lys	Ser	Ala	Lys	Trp	Arg	Arg	Pro	Arg	Thr	Ala	Lys	145	150	155	160
Met	Ile	Asn	Val	Ala	Val	Trp	Gly	Val	Ser	Leu	Leu	Val	Ile	Leu	Pro	165	170	175	
Ile	Met	Ile	Tyr	Ala	Gly	Leu	Arg	Ser	Asn	Gln	Trp	Gly	Arg	Ser	Ser	180	185	190	
Cys	Thr	Ile	Asn	Trp	Pro	Gly	Glu	Ser	Gly	Ala	Trp	Tyr	Thr	Gly	Phe	195	200	205	
Ile	Ile	Tyr	Ala	Phe	Ile	Leu	Gly	Phe	Leu	Val	Pro	Leu	Thr	Ile	Ile	210	215	220	
Cys	Leu	Cys	Tyr	Leu	Phe	Ile	Ile	Ile	Lys	Val	Lys	Ser	Ser	Gly	Ile	225	230	235	240

ES 2 413 161 T3

Arg Val Gly Ser Ser Lys Arg Lys Lys Ser Glu Lys Lys Val Thr Arg
245 250 255

Met Val Ser Ile Val Val Ala Val Phe Ile Phe Cys Trp Leu Pro Phe
260 265 270

Tyr Ile Phe Asn Val Ser Ser Val Ser Val Ala Ile Ser Pro Thr Pro
275 280 285

Ala Leu Lys Gly Met Phe Asp Phe Val Val Ile Leu Thr Tyr Ala Asn
290 295 300

Ser Cys Ala Asn Pro Ile Leu Tyr Ala Phe Leu Ser Asp Asn Phe Lys
305 310 315 320

Lys Ser Phe Gln Asn Val Leu Cys Leu Val Lys Val Ser Gly Ala Glu
325 330 335

Asp Gly Glu Arg Ser Asp Ser Lys Gln Asp Lys Ser Arg Leu Asn Glu
340 345 350

Thr Thr Glu Thr Gln Arg Thr Leu Leu Asn Gly Asp Leu Gln Thr Ser
355 360 365

Ile

<210> 6

<211> 260

5 <212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 6

Met Ala Thr Pro Pro Lys Arg Phe Cys Pro Ser Pro Ser Thr Ser Ser
1 5 10 15

Glu Gly Thr Arg Ile Lys Lys Ile Ser Ile Glu Gly Asn Ile Ala Ala
20 25 30

Gly Lys Ser Thr Phe Val Asn Ile Leu Lys Gln Ala Ser Glu Asp Trp
35 40 45

Glu Val Val Pro Glu Pro Val Ala Arg Trp Cys Asn Val Gln Ser Thr
50 55 60

ES 2 413 161 T3

Gln Glu Glu Phe Glu Glu Leu Thr Thr Ser Gln Lys Ser Gly Gly Asn
65 70 75 80

Val Leu Gln Met Met Tyr Glu Lys Pro Glu Arg Trp Ser Phe Thr Phe
85 90 95

Gln Ser Tyr Ala Cys Leu Ser Arg Ile Arg Ala Gln Leu Ala Ser Leu
100 105 110

Asn Gly Lys Leu Lys Asp Ala Glu Lys Pro Val Leu Phe Phe Glu Arg
115 120 125

Ser Val Tyr Ser Asp Arg Tyr Ile Phe Ala Ser Asn Leu Tyr Glu Ser
130 135 140

Asp Cys Met Asn Glu Thr Glu Trp Thr Ile Tyr Gln Asp Trp His Asp
145 150 155 160

Trp Met Asn Ser Gln Phe Gly Gln Ser Leu Glu Leu Asp Gly Ile Ile
165 170 175

Tyr Leu Arg Ala Thr Pro Glu Lys Cys Leu Asn Arg Ile Tyr Leu Arg
180 185 190

Gly Arg Asn Glu Glu Gln Gly Ile Pro Leu Glu Tyr Leu Glu Lys Leu
195 200 205

His Tyr Lys His Glu Ser Trp Leu Leu His Arg Thr Leu Lys Thr Ser
210 215 220

Phe Asp Tyr Leu Gln Glu Val Pro Val Leu Thr Leu Asp Val Asn Glu
225 230 235 240

Asp Phe Lys Asp Lys His Glu Ser Leu Val Glu Lys Val Lys Glu Phe
245 250 255

Leu Ser Thr Leu
260

<210> 7

<211> 260

5 <212> PRT

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 7

Met Ala Thr Pro Pro Lys Arg Phe Cys Ser Ser Pro Ser Thr Ser Ser
1 5 10 15

ES 2 413 161 T3

Glu Gly Thr Arg Ile Lys Lys Ile Ser Ile Glu Gly Asn Ile Ala Ala
20 25 30

Gly Lys Ser Thr Phe Val Asn Ile Leu Lys Gln Val Cys Glu Asp Trp
35 40 45

Glu Val Val Pro Glu Pro Val Ala Arg Trp Cys Asn Val Gln Ser Thr
50 55 60

Gln Asp Glu Phe Glu Glu Leu Thr Thr Ser Gln Lys Ser Gly Gly Asn
65 70 75 80

Val Leu Gln Met Met Tyr Glu Lys Pro Glu Arg Trp Ser Phe Ile Phe
85 90 95

Gln Ser Tyr Ala Cys Leu Ser Arg Ile Arg Ala Gln Leu Ala Ser Leu
100 105 110

Asn Gly Ser Leu Arg Asp Ala Glu Lys Pro Val Leu Phe Phe Glu Arg
115 120 125

Ser Val Tyr Ser Asp Arg Tyr Ile Phe Ala Ser Asn Leu Tyr Glu Ser
130 135 140

Asp Cys Met Asn Glu Thr Glu Trp Thr Ile Tyr Gln Asp Trp His Asp
145 150 155 160

Trp Met Asn Ser Gln Phe Gly Gln Ser Leu Glu Leu Asp Gly Ile Ile
165 170 175

Tyr Leu Arg Ala Thr Pro Glu Lys Cys Leu Asn Arg Ile Tyr Ile Arg
180 185 190

Gly Arg Asp Glu Glu Gln Gly Ile Pro Leu Glu Tyr Leu Glu Lys Leu
195 200 205

His Tyr Lys His Glu Ser Trp Leu Leu His Arg Thr Leu Lys Thr Asn
210 215 220

Phe Glu Tyr Leu Gln Glu Val Pro Ile Leu Thr Leu Asp Val Asn Leu
225 230 235 240

Asp Phe Lys Asp Lys Glu Glu Ser Leu Val Glu Lys Val Lys Glu Phe
245 250 255

Leu Ser Thr Thr
260

ES 2 413 161 T3

<210> 8

<211> 260

<212> PRT

5 <213> *Bos taurus*

<400> 8

Met Ala Thr Pro Pro Lys Arg Ser Cys Pro Ser Pro Ala Ala Ser Ser
1 5 10 15

Glu Gly Thr Arg Ile Lys Lys Ile Ser Ile Glu Gly Asn Ile Ala Ala
20 25 30

Gly Lys Ser Thr Phe Val Asn Ile Leu Lys Gln Val Cys Glu Asp Trp
35 40 45

Glu Val Val Pro Glu Pro Val Ala Arg Trp Cys Asn Val Gln Ser Thr
50 55 60

Gln Asp Glu Phe Glu Glu Leu Thr Thr Ser Gln Lys Ser Gly Gly Asn
65 70 75 80

Val Leu Gln Met Met Tyr Glu Lys Pro Glu Arg Trp Ser Phe Thr Phe
85 90 95

Gln Ser Tyr Ala Cys Leu Ser Arg Ile Arg Ala Gln Leu Ala Ala Leu
100 105 110

Asn Gly Lys Leu Lys Asp Ala Glu Lys Pro Val Leu Phe Phe Glu Arg
115 120 125

Ser Val Tyr Ser Asp Arg Tyr Ile Phe Ala Ser Asn Leu Tyr Glu Ser
130 135 140

Asp Cys Met Asn Glu Thr Glu Trp Thr Ile Tyr Gln Asp Trp His Asp
145 150 155 160

Trp Met Asn Asn Gln Phe Gly Gln Ser Leu Glu Leu Asp Gly Ile Ile
165 170 175

Tyr Leu Arg Ala Thr Pro Glu Lys Cys Leu Asn Arg Ile Tyr Leu Arg
180 185 190

Gly Arg Asn Glu Glu Gln Gly Ile Pro Leu Glu Tyr Leu Glu Lys Leu

ES 2 413 161 T3

195					200					205					
His	Tyr	Lys	His	Glu	Ser	Trp	Leu	Leu	His	Arg	Thr	Leu	Lys	Thr	Asn
210						215					220				
Phe	Asp	Tyr	Leu	Gln	Glu	Val	Pro	Ile	Leu	Thr	Leu	Asp	Val	Asn	Glu
225					230					235					240
Asp	Phe	Lys	Asp	Lys	His	Asp	Ser	Leu	Ile	Glu	Lys	Val	Lys	Asp	Phe
				245					250					255	
Leu	Ser	Thr	Leu												
				260											

<210> 9

<211> 227

5 <212> PRT

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 9

Met	Leu	Ser	Ser	Cys	Arg	Arg	Trp	Leu	Leu	His	Val	Leu	Val	Pro	Ser
1				5					10					15	
Phe	Pro	Pro	Leu	Thr	Arg	Gly	Leu	Arg	Phe	Phe	Pro	Leu	Gln	Leu	Met
			20					25					30		
Lys	Pro	Leu	Val	Val	Phe	Val	Leu	Gly	Gly	Pro	Gly	Ala	Gly	Lys	Gly
		35					40					45			
Thr	Gln	Cys	Ala	Arg	Ile	Val	Glu	Lys	Tyr	Gly	Tyr	Thr	His	Leu	Ser
	50					55					60				
Ala	Gly	Glu	Leu	Leu	Arg	Asp	Glu	Arg	Lys	Asn	Pro	Asp	Ser	Gln	Tyr
65					70					75					80
Gly	Glu	Leu	Ile	Glu	Lys	Tyr	Ile	Lys	Glu	Gly	Lys	Ile	Val	Pro	Val
				85					90					95	
Glu	Ile	Thr	Ile	Ser	Leu	Leu	Lys	Arg	Glu	Met	Asp	Gln	Thr	Met	Ala
			100					105					110		
Ala	Asn	Ala	Gln	Lys	Asn	Lys	Phe	Leu	Ile	Asp	Gly	Phe	Pro	Arg	Asn
		115					120					125			
Gln	Asp	Asn	Leu	Gln	Gly	Trp	Asn	Lys	Thr	Met	Asp	Gly	Lys	Ala	Asp
	130					135					140				

ES 2 413 161 T3

Val Ser Phe Val Leu Phe Phe Asp Cys Asn Asn Glu Ile Cys Ile Asp
145 150 155 160

Arg Cys Leu Glu Arg Gly Lys Ser Ser Gly Arg Ser Asp Asp Asn Arg
165 170 175

Glu Ser Leu Glu Lys Arg Ile Gln Thr Tyr Leu Glu Ser Thr Lys Pro
180 185 190

Ile Ile Asp Leu Tyr Glu Glu Met Gly Lys Val Lys Lys Ile Asp Ala
195 200 205

Ser Lys Ser Val Asp Glu Val Phe Gly Asp Val Met Lys Ile Phe Asp
210 215 220

Lys Glu Gly
225

<210> 10

<211> 507

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fusión DCK:UMK

10

<400> 10

Met Ala Thr Pro Pro Lys Arg Ser Cys Pro Ser Phe Ser Ala Ser Ser
1 5 10 15

Glu Gly Thr Arg Ile Lys Lys Ile Ser Ile Glu Gly Asn Ile Ala Ala
20 25 30

Gly Lys Ser Thr Phe Val Asn Ile Leu Lys Gln Leu Cys Glu Asp Trp
35 40 45

Glu Val Val Pro Glu Pro Val Ala Arg Trp Cys Asn Val Gln Ser Thr
50 55 60

Gln Asp Glu Phe Glu Glu Leu Thr Met Ser Gln Lys Asn Gly Gly Asn
65 70 75 80

Val Leu Gln Met Met Tyr Glu Lys Pro Glu Arg Trp Ser Phe Thr Phe
85 90 95

Gln Thr Tyr Ala Cys Leu Ser Arg Ile Arg Ala Gln Leu Ala Ser Leu
100 105 110

ES 2 413 161 T3

Asn	Gly	Lys	Leu	Lys	Asp	Ala	Glu	Lys	Pro	Val	Leu	Phe	Phe	Glu	Arg
		115					120					125			
Ser	Val	Tyr	Ser	Asp	Arg	Tyr	Ile	Phe	Ala	Ser	Asn	Leu	Tyr	Glu	Ser
	130					135					140				
Glu	Cys	Met	Asn	Glu	Thr	Glu	Trp	Thr	Ile	Tyr	Gln	Asp	Trp	His	Asp
145					150					155					160
Trp	Met	Asn	Asn	Gln	Phe	Gly	Gln	Ser	Leu	Glu	Leu	Asp	Gly	Ile	Ile
				165					170					175	
Tyr	Leu	Gln	Ala	Thr	Pro	Glu	Thr	Cys	Leu	His	Arg	Ile	Tyr	Leu	Arg
			180					185					190		
Gly	Arg	Asn	Glu	Glu	Gln	Gly	Ile	Pro	Leu	Glu	Tyr	Leu	Glu	Lys	Leu
		195					200					205			
His	Tyr	Lys	His	Glu	Ser	Trp	Leu	Leu	His	Arg	Thr	Leu	Lys	Thr	Asn
	210					215					220				
Phe	Asp	Tyr	Leu	Gln	Glu	Val	Pro	Ile	Leu	Thr	Leu	Asp	Val	Asn	Glu
225					230					235					240
Asp	Phe	Lys	Asp	Lys	Tyr	Glu	Ser	Leu	Val	Glu	Lys	Val	Lys	Glu	Phe
			245						250					255	
Leu	Ser	Thr	Leu	Gln	Leu	Leu	Asn	Pro	Asp	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala	Gly
			260					265						270	
Asp	Val	Glu	Ser	Asn	Pro	Gly	Met	Leu	Ser	Arg	Cys	Arg	Ser	Gly	Leu
		275					280					285			
Leu	His	Val	Leu	Gly	Leu	Ser	Phe	Leu	Leu	Gln	Thr	Arg	Arg	Pro	Ile
	290					295					300				
Leu	Leu	Cys	Ser	Pro	Arg	Leu	Met	Lys	Pro	Leu	Val	Val	Phe	Val	Leu
305					310					315					320
Gly	Gly	Pro	Gly	Ala	Gly	Lys	Gly	Thr	Gln	Cys	Ala	Arg	Ile	Val	Glu
				325					330					335	
Lys	Tyr	Gly	Tyr	Thr	His	Leu	Ser	Ala	Gly	Glu	Leu	Leu	Arg	Asp	Glu
			340					345					350		

ES 2 413 161 T3

Arg Lys Asn Pro Asp Ser Gln Tyr Gly Glu Leu Ile Glu Lys Tyr Ile
355 360 365

Lys Glu Gly Lys Ile Val Pro Val Glu Ile Thr Ile Ser Leu Leu Lys
370 375 380

Arg Glu Met Asp Gln Thr Met Ala Ala Asn Ala Gln Lys Asn Lys Phe
385 390 395 400

Leu Ile Asp Gly Phe Pro Arg Asn Gln Asp Asn Leu Gln Gly Trp Asn
405 410 415

Lys Thr Met Asp Gly Lys Ala Asp Val Ser Phe Val Leu Phe Phe Asp
420 425 430

Cys Asn Asn Glu Ile Cys Ile Glu Arg Cys Leu Glu Arg Gly Lys Ser
435 440 445

Ser Gly Arg Ser Asp Asp Asn Arg Glu Ser Leu Glu Lys Arg Ile Gln
450 455 460

Thr Tyr Leu Gln Ser Thr Lys Pro Ile Ile Asp Leu Tyr Glu Glu Met
465 470 475 480

Gly Lys Val Lys Lys Ile Asp Ala Ser Lys Ser Val Asp Glu Val Phe
485 490 495

Asp Glu Val Val Gln Ile Phe Asp Lys Glu Gly
500 505

<210> 11

<211> 7548

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Vector pHNeo Sst2 DCK:UMK

10

<400> 11

```
cctgcaggcg ttacataact tacggtaaata ggcccgcctg gctgaccgcc caacgacccc 60
cgcccattga cgtcaataat gacgtatgtt cccatagtaa cgccaatagg gactttccat 120
tgacgtcaat ggggtggagta tttacggtaa actgcccact tggcagtaca tcaagtgtat 180
catatgccaa gtacgccccc tattgacgtc aatgacggta aatggcccgc ctggcattat 240
gcccagtaca tgaccttatg ggactttcct acttggcagt acatctacgt attagtcac 300
gctattacca tgatgatgcg gttttggcag tacatcaatg ggcgtggata gcggtttgac 360
```

tcacgggggat ttccaagtct ccaccccatt gacgtcaatg ggagtttggt ttgactagtc	420
gcgctcgtgca ggacgtgaca aatctagtcg cgtcgtgcag gacgtgacaa atctagtcgc	480
gtcgtgcagg acgtgacaat ctagttaccg gcggaaacgg tctcgggttg agaggtcacc	540
cgagggacag gcagctgctg aaccaatagg accggcgcac agggcggatg ctgcccctca	600
ttggcggccg ttgagagtga ccaagagcca atgagtcagc ccggggggcg tagcagtgac	660
gtaagttgcg gaggaggccg cttcgaatcg gcagcggcca gcttggtggc atggaccaat	720
cagcgtcctc caacgaggag cgccttcgcc aatcggaggc ctccacgacg gggctggggg	780
gagggtatat aagccgagtc ggcggcggcg cgctccacac gggccgagac cacagcgacg	840
ggagcgtctg cctctgcggg gccgagaggt aagcgcgcg gcctgccctt tccaggccaa	900
ctcggagccc gtctcgtggc tccgcctgat cgggggctcc tgtcgccctc agatcggtcg	960
gaacgcgcgc gcgtccggg actacaagcc tgttgctggg cccggagact gccgaaggac	1020
cgctgagcac tgtcctcagc gccggcacca tggccacccc gcccaagaga agctgcccg	1080
ctttctcagc cagctctgag gggaccgcga tcaagaaaat ctccatcgaa gggaacatcg	1140
ctgcagggaa gtcaacattt gtgaatatcc ttaaacaatt gtgtgaagat tgggaagtgg	1200
ttcctgaacc tgttgccaga tgggtgcaatg ttcaaagtac tcaagatgaa tttgaggaac	1260
ttacaatgtc tcagaaaaat ggtgggaatg ttcttcagat gatgtatgag aaacctgaac	1320
gatggctctt taccttccaa acatatgcct gtctcagtcg aataagagct cagcttgcc	1380
ctctgaatgg caagctcaaa gatgcagaga aacctgtatt attttttgaa cgatctgtgt	1440
atagtgcag gtatatTTTT gcatctaatt tgtatgaatc tgaatgcatg aatgagacag	1500
agtggacaat ttatcaagac tggcatgact ggatgaataa ccaatttggc caaagccttg	1560
aattggatgg aatcatttat cttcaagcca ctccagagac atgcttacat agaatatatt	1620
tacggggaag aaatgaagag caaggcattc ctcttgaata tttagagaag cttcattata	1680
aacatgaaag ctggctcctg cataggacac tgaaaaccaa cttcgattat cttcaagagg	1740
tgcctatctt aacactggat gttaatgaag actttaaaga caaatatgaa agtctgggtg	1800
aaaagggtcaa agagtttttg agtacttttg taccacagct gctcaacttt gacctgctca	1860
agctggctgg ggatgtggag agcaaccctg ggcccatcat gaagccgctg gtcgtgttcg	1920
tcctcggcgg ccccggcgcg ggcaagggga ccagtgccg ccgcatcgtc gagaaatatg	1980
gctacacaca cttttctgca ggagagctgc ttcgtgatga aaggaagaac ccagattcac	2040
agtatggtga acttattgaa aagtacatta aagaaggaaa gattgtacca gttgagataa	2100
ccatcagttt attaaagagg gaaatggatc agacaatggc tgccaatgct cagaagaata	2160

aattcttgat	tgatgggttt	ccaagaaatc	aagacaacct	tcaaggatgg	aacaagacca	2220
tggatgggaa	ggcagatgta	tctttcgttc	tcttttttga	ctgtaataat	gagatttgta	2280
ttgaacgatg	tcttgagagg	ggaaagagta	gtggtaggag	tgatgacaac	agagagagct	2340
tggaaaagag	aattcagacc	taccttcagt	caacaaagcc	aattattgac	ttatatgaag	2400
aaatggggaa	agtcaagaaa	atagatgctt	ctaaatctgt	tgatgaagtt	tttgatgaag	2460
ttgtgcagat	ttttgacaag	gaaggctaag	ctagctggcc	agacatgata	agatacattg	2520
atgagtttgg	acaaaccaca	actagaatgc	agtgaaaaaa	atgctttatt	tgtgaaattt	2580
gtgatgctat	tgctttattt	gtaaccatta	taagctgcaa	taaacaagtt	aacaacaaca	2640
attgcattca	ttttatgttt	caggttcagg	gggaggtgtg	ggaggttttt	taaagcaagt	2700
aaaacctcta	caaagtgtgt	atggaaatgt	taattaacta	gccatgacca	aaatccctta	2760
acgtgagttt	tcgttccact	gagcgtcaga	ccccgtagaa	aagatcaaag	gatcttcttg	2820
agatcctttt	tttctgcgcg	taatctgctg	cttgcaaaca	aaaaaaccac	cgctaccagc	2880
ggtggtttgt	ttgccggatc	aagagctacc	aactcttttt	ccgaaggtaa	ctggcttcag	2940
cagagcgcag	ataccaaata	ctgttcttct	agtgtagccg	tagttaggcc	accacttcaa	3000
gaactctgta	gcaccgccta	catacctcgc	tctgctaate	ctgttaccag	tggctgctgc	3060
cagtggcgat	aagtcgtgtc	ttaccggggt	ggactcaaga	cgatagttac	cggataaggc	3120
gcagcggtcg	ggctgaacgg	ggggttcgtg	cacacagccc	agcttgagac	gaacgacctt	3180
caccgaactg	agatacctac	agcgtgagct	atgagaaagc	gccacgcttc	ccgaaggag	3240
aaaggcggac	aggtatccgg	taagcggcag	ggtcggaaca	ggagagcgca	cgagggagct	3300
tccaggggga	aacgcctggg	atctttatag	tctgtcggg	tttcgccacc	tctgacttga	3360
gcgtcgattt	ttgtgatgct	cgtcaggggg	gaggagccta	tggaaaaacg	ccagcaacgc	3420
ggccttttta	cggttcctgg	ccttttgctg	gccttttgct	cacatgttct	taattaacct	3480
gcagggcctg	aaataacctc	tgaagagga	acttggttag	gtaccttctg	aggctgaaag	3540
aaccagctgt	ggaatgtgtg	tcagttaggg	tgtggaaagt	ccccaggctc	cccagcaggc	3600
agaagtatgc	aaagcatgca	tctcaattag	tcagcaacca	ggtgtggaaa	gtccccaggc	3660
tccccagcag	gcagaagtat	gcaaagcatg	catctcaatt	agtcagcaac	catagtccca	3720
ctagtacacg	tgggttcccc	cacgtccgct	gggtccccc	tctgacgtga	ttctagtttc	3780
atcaccaccg	ccaccccccc	gcccccccgc	catctgaaag	ggttctaggg	gatttgcaac	3840
ctctctcgtg	tgtttcttct	ttccgagaag	cgccgccaca	cgagaaagct	ggccgcgaaa	3900
gtcgtgctgg	aatcacttcc	aacgaaaccc	caggcataga	tgggaaaggg	tgaagaacac	3960
gttgtcatgg	ctaccgtttc	cccggtcacg	gaataaacgc	tctctaggat	ccggaagtag	4020

ttccgccgcg acctctctaa aaggatggat gtgttctctg cttacattca ttggacgttt	4080
tcccttagag gccaaaggccg cccaggcaaa ggggcgggtcc cacgcgtgag gggcccgcgg	4140
agccatttga ttggagaaaa gctgcaaacc ctgaccaatc ggaaggagcc acgcttcggg	4200
catcggtcac cgcacctgga cagctccgat tgggtggactt ccgccccccc tcacgaatcc	4260
tcattgggtg ccgtgggtgc gtggtgcggc gcgattgggtg ggttcattgtt tcccgtcccc	4320
cggccgcgag aagtgggggt gaaaagcggc ccgacctgct tgggggtgtag tgggcggacc	4380
gcgcggctgg aggtgtgagg atccgaaccc aggggtgggg ggtggaggcg gctcctgcga	4440
tcgaagggga cttgagactc accggtacca ccatggacat ggcggatgag ccactcaatg	4500
gaagccacac atggctatcc attccatttg acctcaatgg ctctgtgggtg tcaaccaaca	4560
cctcaaacca gacagagccg tactatgacc tgacaagcaa tgcagtcctc acattcatct	4620
attttgtgggt ctgcatcatt gggttgtgtg gcaacacact tgtcatttat gtcatcctcc	4680
gctatgccaa gatgaagacc atcaccaaca tttacatcct caacctggcc atcgcatatg	4740
agctcttcat gctgggtctg cctttcttgg ctatgcagggt ggctctggtc cactggccct	4800
ttggcaaggc catttgccgg gtggtcatga ctgtggatgg catcaatcag ttcaccagca	4860
tcttctgcct gacagtcatg agcatcgacc gatacctggc tgtggtccac cccatcaagt	4920
cggccaagtg gaggagacc cggacggcca agatgatcac catggctgtg tggggagtct	4980
ctctgctgggt catcttgccc atcatgatat atgctgggct ccggagcaac cagtggggga	5040
gaagcagctg caccatcaac tggccagggtg aatctggggc ttggtacaca gggttcatca	5100
tctacacttt cattctgggg ttcttggtac ccctcaccat catctgtctt tgctacctgt	5160
tcattatcat caaggatgaag tcctctggaa tccgagtggg ctctctaaag aggaagaagt	5220
ctgagaagaa ggtcacccga atggtgtcca tcgtgggtggc tgtcttcatc ttctgctggc	5280
ttcccttcta catattcaac gtttcttccg tctccatggc catcagcccc accccagccc	5340
ttaaaggcat gtttgacttt gtggtgggtcc tcacctatgc taacagctgt gccaaccccta	5400
tcctatatgc cttcttgtct gacaacttca agaagagctt ccagaatgtc ctctgcttgg	5460
tcaagggtgag cggcacagat gatggggagc ggagtgcag taagcaggac aaatcccggc	5520
tgaatgagac cacggagacc cagaggacc tcctcaatgg agacctcaa accagtatct	5580
gaagctagga gcaggtttcc ccaatgacac aaaacgtgca acttgaaact ccgcctggtc	5640
tttccagggtc tagaggggta acactttgta ctgcgtttgg ctccacgctc gatccactgg	5700
cgagtgttag taacagcact gttgcttcgt agcggagcat gacggccgtg ggaactcctc	5760
cttggttaaca aggaccacg gggccaaaag ccacgcccac acgggcccgt catgtgtgca	5820

accccagcac	ggcgacttta	ctgcgaaacc	cacttttaaag	tgacattgaa	actggtaccc	5880
acacactggg	gacaggctaa	ggatgccctt	caggtacccc	gaggtaacac	gcgacactcg	5940
ggatctgaga	aggggactgg	ggcttctata	aaagcgctcg	gtttaaaaag	cttctatgcc	6000
tgaataggtg	accggaggtc	ggcacctttc	ctttgcaatt	actgacccta	tgaatacaac	6060
tgactgtttg	acaattaatc	atcggcatag	tatatcggca	tagtataata	cgactcacta	6120
taggagggcc	accatgattg	aacaagatgg	attgcacgca	ggttctccgg	ccgcttgggt	6180
ggagaggcta	ttcggctatg	actgggcaca	acagacaatc	ggctgctctg	atgccgccgt	6240
gttccggctg	tcagcgcagg	ggcgcccggg	tctttttgtc	aagaccgacc	tgtccgggtg	6300
cctgaatgaa	ctgcaggacg	aggcagcgcg	gctatcgtgg	ctggccacga	cgggcgttcc	6360
ttgcgcagct	gtgctcgacg	ttgtcactga	agcgggaagg	gactggctgc	tattgggcga	6420
agtgccgggg	caggatctcc	tgtcatctca	ccttgctcct	gccgagaaag	tatccatcat	6480
ggctgatgca	atgcggcggc	tgcatacgtc	tgatccggct	acctgcccac	tcgaccacca	6540
agcgaaacat	cgcacgcagc	gagcacgtac	tcggatggaa	gccggtcttg	tcgatcagga	6600
tgatctggac	gaagagcatc	aggggctcgc	gccagccgaa	ctgttcgcca	ggctcaaggc	6660
gcgcacgccc	gacggcgagg	atctcgtcgt	gacccatggc	gatgcctgct	tgccgaatat	6720
catggtggaa	aatggccgct	tttctggatt	catcgactgt	ggccggctgg	gtgtggcggg	6780
ccgctatcag	gacatagcgt	tggctacccg	tgatattgct	gaagagcttg	gcggcgaatg	6840
ggctgaccgc	ttcctcgtgc	tttacggtat	cgccgctccc	gattcgcagc	gcacgcctt	6900
ctatcgcctt	cttgacgagt	tcttctgagc	gggactctgg	ggttcgaaat	gaccgaccaa	6960
gcgaattcgc	tagcattatc	cctaatacct	gccacccccc	tcttaatcag	tggtggaaga	7020
acggctctcag	aactgtttgt	ttcaattggc	catttaagtt	tagtagtaaa	agactgggta	7080
atgataacaa	tgcacgtaaa	aaccttcaga	aggaaaggag	aatgttttgt	ggaccacttt	7140
ggttttcttt	tttgcgtgtg	gcagttttaa	gttattagtt	tttaaaatca	gtacttttta	7200
atggaaacaa	cttgaccaaaa	aatttgtcac	agaattttga	gaccatttaa	aaaagttaaa	7260
tgagaaacct	gtgtgttcct	ttggtcaaca	ccgagacatt	taggtgaaag	acatctaatt	7320
ctggttttac	gaatctggaa	acttcttgaa	aatgtaattc	ttgagttaac	acttctgggt	7380
ggagaatagg	gttggttttc	ccccacataa	ttggaagggg	aaggaatata	atttaaagct	7440
atgggagggg	tgctttgatt	acaacactgg	agagaaatgc	agcatgttgc	tgattgcctg	7500
tcactaaaaa	aggccaaaaa	ctgagtcctt	gggttgcata	gaaagctg		7548

REIVINDICACIONES

1. Productos que contienen:

- 5 (i) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína del receptor de somatostatina 2 humana (sst2) que presenta la secuencia SEC ID nº:1, o una secuencia que presenta un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID nº:1,
- 10 (ii) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína desoxicitidina cinasa (dck) humana que presenta la secuencia SEC ID nº:2, o una secuencia que presenta un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID nº:2,
- 15 (iii) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína uridina monofosfato cinasa (umk) humana que presenta la secuencia SEC ID nº:3, o una secuencia que presenta un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID nº:3, y
- (iv) gemcitabina,

20 como una preparación combinada para la utilización simultánea, separada o secuencial en el tratamiento de cáncer en un sujeto.

2. Productos para la utilización según la reivindicación 1, en los que dichos productos se dirigen a la inhibición de la metástasis tumoral.

25 3. Productos para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en los que dichos productos son útiles para tratar el cáncer pancreático.

4. Productos para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en los que dichos productos son útiles para tratar el carcinoma hepatocelular.

30 5. Productos para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en los que dicho sujeto es un ser humano.

35 6. Productos para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en los que dichos productos comprenden al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica simultáneamente la proteína desoxicitidina cinasa (dck) humana que presenta la secuencia SEC ID nº:2, o una secuencia que presenta un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID nº:2, y la proteína uridina monofosfato cinasa (umk) humana que presenta la secuencia SEC ID nº:3, o una secuencia que presenta un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID nº:3.

40 7. Productos para la utilización según la reivindicación 6, en los que dichos productos comprenden al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido que comprende las dos proteínas proteína desoxicitidina cinasa (dck) de *Homo sapiens* y proteína uridina monofosfato cinasa (umk) de *Homo sapiens*, enlazadas mediante el péptido FMDV (virus de la glosopeda) 2A escindible, presentando dicho polipéptido la secuencia SEC ID nº: 10.

45 8. Productos para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en los que dichas secuencias de ácidos nucleicos están comprendidas en al menos un vector, preferentemente un vector plasmídico.

50 9. Productos para la utilización según la reivindicación 8, en los que dicho vector plasmídico presenta la secuencia SEC ID nº: 11, y comprende unas secuencias de ácidos nucleicos que codifican la proteína del receptor de somatostatina 2 de *Homo sapiens* y un polipéptido que comprende las dos proteínas proteína desoxicitidina cinasa (dck) de *Homo sapiens* y proteína uridina monofosfato cinasa (umk) de *Homo sapiens* enlazadas mediante el péptido FMDV (virus de la glosopeda) 2A escindible.

55 10. Productos para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 8 o 9, en los que dichos vector o vectores plasmídicos están asociados con polímeros catiónicos no lipídicos, preferentemente con polietiliminina (PEI).

11. Composición farmacéutica que comprende:

- 60 (i) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína del receptor de somatostatina 2 humana (SST2) que presenta la secuencia SEC ID nº:1, o una secuencia que presenta un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID nº:1,
- 65 (ii) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína desoxicitidina cinasa (DCK) humana que presenta la secuencia SEC ID nº:2, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID nº:2,

(iii) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína uridina monofosfato cinasa (UMK) humana que presenta la secuencia SEC ID n°:3, o una secuencia que tiene un porcentaje de identidad de al menos 80% con la secuencia completa SEC ID n°:3, y

(iv) opcionalmente, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

12. Composición farmacéutica según la reivindicación 11, en la que dichas secuencias de ácidos nucleicos están comprendidas en el interior de un vector plasmídico que presenta la secuencia SEC ID n°: 11, y que comprende unas secuencias de ácidos nucleicos que codifican la proteína del receptor de somatostatina 2 de *Homo sapiens* y un polipéptido que comprende las dos proteínas proteína desoxicitidina cinasa (dck) de *Homo sapiens* y proteína uridina monofosfato cinasa (umk) de *Homo sapiens* enlazadas mediante el péptido FMDV (virus de la glosopeda) 2A escindible.

13. Composición farmacéutica según la reivindicación 12, en la que dicho vector plasmídico está asociado con la polietilenimina (PEI).

14. Vector plasmídico que presenta la secuencia SEC ID n°: 11, y que comprende unas secuencias de ácidos nucleicos que codifican la proteína del receptor de somatostatina 2 de *Homo sapiens* y un polipéptido que comprende las dos proteínas proteína desoxicitidina cinasa (dck) de *Homo sapiens* y proteína uridina monofosfato cinasa (umk) de *Homo sapiens* enlazadas mediante el péptido FMDV (virus de la glosopeda) 2A escindible.

15. Productos para la utilización según la reivindicación 3, en los que dicha gemcitabina se administrará a una dosis igual o inferior a 750 mg/m^2 por día.

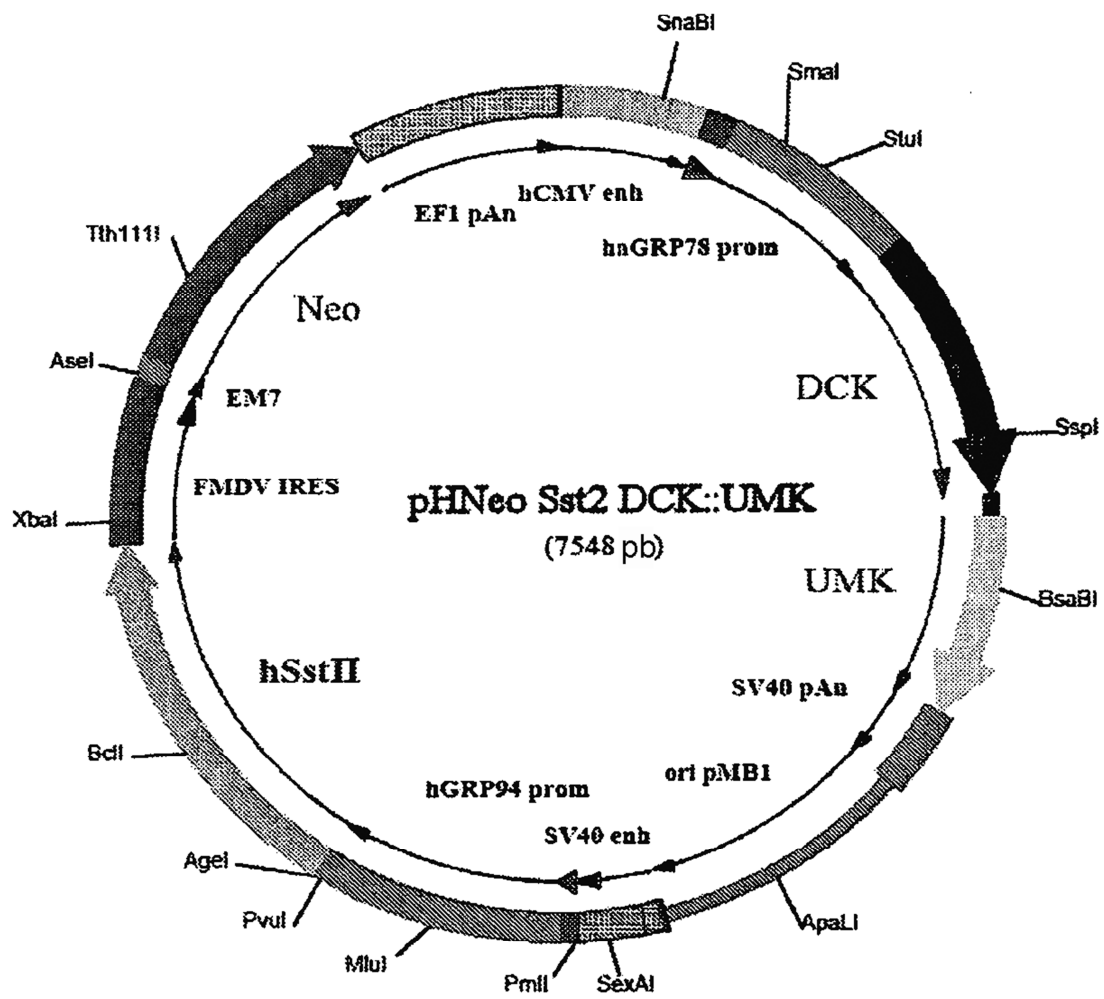


Figura 1

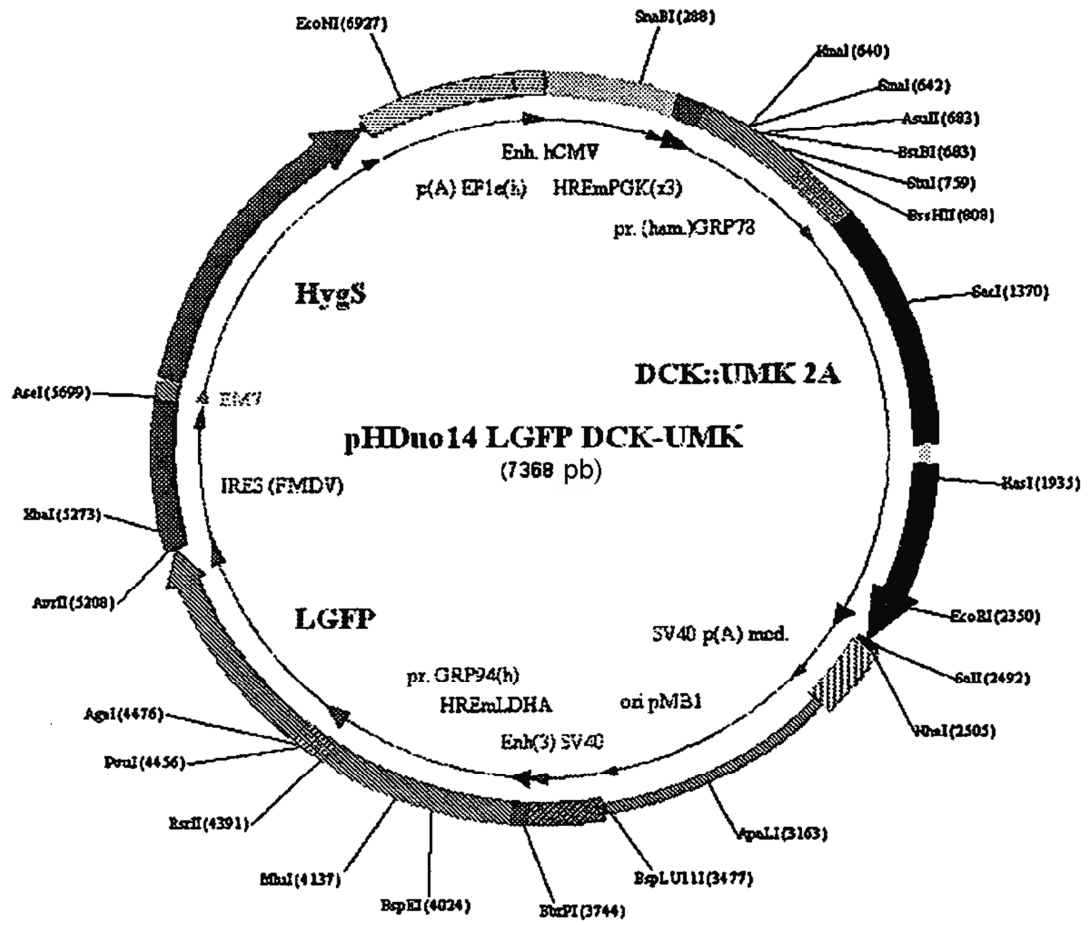


Figura 2