

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 442**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)
A61K 31/167 (2006.01)
A61K 31/105 (2006.01)
A61K 31/713 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.04.2010** **PCT/CA2010/000514**
87 Fecha y número de publicación internacional: **07.10.2010** **WO10111792**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2010** **E 10757982 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.05.2017** **EP 2413968**

54 Título: **Productos terapéuticos inhibidores de semaforina 3C (SEMA3C), métodos y usos**

30 Prioridad:

01.04.2009 US 202756 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.10.2017

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA
(100.0%)
University-Industry Liaison Office, 103-6190
Agronomy Road
Vancouver, BC V6T 1Z3, CA**

72 Inventor/es:

**ONG, CHRISTOPHER J.;
GLEAVE, MARTIN E.;
HAYASHI, NORIHIRO y
PEACOCK, JAMES**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 637 442 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 terapéuticos inhibidores de semaforina 3C (SEMA3C), métodos y usos

5 Solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica la prioridad para la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos 61/202.756 presentada el 1 de abril de 2009.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones y a métodos para el tratamiento del cáncer. La invención se refiere más específicamente a agentes terapéuticos potenciales para el tratamiento del cáncer de próstata.

15 Antecedentes

Entre los hombres estadounidenses, el cáncer de próstata avanzado (CaP) es actualmente el cáncer más frecuentemente diagnosticado y es la segunda causa de muerte por cáncer. En 2009, una estimación de 192.280 hombres estadounidenses serán diagnosticados con CaP y 27.360 morirán de la enfermedad. Si bien la enfermedad en estadio temprano con frecuencia es curable con cirugía o radioterapia, aproximadamente un tercio de los pacientes se presentan clínicamente con la enfermedad avanzada localmente o metastásica, lo que se asocia a un mal pronóstico. La supresión androgénica terapéutica a través de la castración quirúrgica o médica sigue siendo la terapia más eficaz para el CaP avanzado desde su creación en 1941 por Charles Huggins (Huggins y Hodges 1941). La supresión androgénica induce uniformemente la regresión tumoral en más del 80 % de los pacientes con enfermedad avanzada debido a la exquisita dependencia de las células de CaP en el eje de señalización androgénica para su crecimiento y la supervivencia (Isaacs et al. 1997). Además, la expresión del Receptor de Andrógenos (RA) se mantiene durante toda la progresión del cáncer de próstata, y la mayoría de los cánceres de próstata independientes de andrógenos o refractarios a hormonas expresan RA (Heinlein y Chang 2004). Sin embargo, a pesar del éxito inicial en el logro de respuestas clínicas significativas y tangibles, la duración de la supervivencia sin progresión sigue siendo transitoria (~ 1-3 años) y la progresión a la enfermedad mortal resistente a la castración (también denominada con frecuencia enfermedad independiente de andrógenos o refractaria a hormonas) es esencialmente universal (Bruchovsky et al. 1988; Goldenberg et al. 1988; Bruchovsky et al. 1989). Por tanto, el actual tratamiento de referencia para los pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración (CPRC) sigue siendo solo paliativo, induciendo la quimioterapia - por ejemplo, el docetaxel (Petrylak et al. 2004; Tannock et al. 2004) solamente beneficios marginales de supervivencia a un coste de, a veces, una morbilidad significativa.

Las semaforinas son una gran familia de proteínas de señalización altamente conservadas secretadas o de superficie celular que se identificaron originalmente como mediadores de la migración celular y orientación de axones en el sistema nervioso en desarrollo (Tamagnone y Comoglio 2000; Kruger et al. 2005). Aunque las semaforinas se han caracterizado mejor en el sistema nervioso, se sabe que se expresan en otros tejidos. Se ha implicado a las semaforinas en una diversidad de procesos fisiológicos dinámicos incluyendo la angiogénesis, la morfogénesis de tejidos y la inmunidad (Kolodkin et al. 1993; Kruger et al., 2005). Las semaforinas regulan numerosas respuestas biológicas incluyendo la proliferación celular, la adhesión, la migración y la apoptosis mediante la interacción de las semaforinas con sus receptores afines, las plexinas. Las plexinas son receptores transmembrana de un solo pase que tienen dominios intracelulares altamente conservados que tienen actividad GAP intrínseca (proteína activadora de GTPasa, por sus siglas en inglés) hacia R-Ras12 (Negishi et al. 2005). Se han identificado nueve plexinas de vertebrados, agrupadas en cuatro subfamilias (Plexina A a D) basándose en análisis filogenéticos informáticos. Tanto las semaforinas como las plexinas expresan un motivo extracelular de 500 aminoácidos conservado denominado dominio SEMA que se cree que está implicado en interacciones proteína-proteína. Las semaforinas asociadas a la membrana se unen directamente a las plexinas mientras que las semaforinas secretadas, con frecuencia tienen un componente de unión adicional (cualquiera de las neuropilinas 1 o 2 (NPN-1 o NPN-2)) como correceptores. Se cree que las plexinas regulan el citoesqueleto de actina mediante el control de la actividad de las GTPasas pequeñas, Rnd1, R-Ras, Rac y Rho12. Cuando las plexinas se unen a la semaforina se cree que también interactúan con y activan las tirosina cinasas receptoras, Her2/neu (ErbB2) y receptor del factor de crecimiento de hepatocitos/factor de dispersión (c-Met) (Giordano et al. 2002; Swiercz et al. 2004; Swiercz et al. 2008).

SEMA3C es un miembro de las semaforinas de clase 3, que son una subfamilia de semaforinas secretadas (Tamagnone y Comoglio 2000; Verras et al., 2007). SEMA3C puede mediar efectos opuestos en función del tipo de célula diana. Por ejemplo, SEMA3C proporciona orientación de axones quimiorrepulsiva a las neuronas simpáticas, mientras que SEMA3C proporciona orientación quimioattractiva a las neuronas GABAérgicas. La especificidad de las señales de semaforina en cada tipo celular depende de la combinación de neuropilina/plexina presente y de su asociación a receptores accesorios. Se ha demostrado que SEMA3C se une a complejos de receptor compuestos de Plexina A1, A2, B1 o en asociación sea con o bien Npn-1 o bien NPN-210. Las plexinas pueden influir activamente en su afinidad de unión (y posiblemente en su selectividad) para los diferentes subconjuntos de semaforinas secretadas. Por ejemplo, la unión de SEMA3C a neuropilinas parece inhibirse por la coexpresión de

plexina A1, mientras que se incrementa en presencia de plexina A2 o B1.

Herman y Meadows (2007) indican una asociación entre la expresión de SEMA3C y el aumento de la invasión y la adherencia en células cancerosas negativas para el RA PC-3. Sin embargo, los cánceres de próstata negativos para el RA representan una pequeña minoría de los cánceres de próstata independientes de andrógenos de fase crónica (Heinlein y Chang 2004).

Sumario de la invención

La presente invención se basa, en parte, en el sorprendente descubrimiento de que SEMA3C desempeña un papel importante en la progresión del cáncer de próstata positivo para el receptor de andrógenos (RA) y en el cáncer de próstata dependiente de andrógenos.

De acuerdo con una primera realización, se proporciona un inhibidor de SEMA3C para su uso en el tratamiento de un cáncer de próstata. La cantidad biológicamente eficaz puede ser una cantidad suficiente para provocar la muerte celular de una célula de cáncer de próstata o para inhibir la proliferación de las células de cáncer de próstata.

De acuerdo con otra realización, se proporciona un método para destruir o inhibir la proliferación del cáncer de próstata positivo para el receptor de andrógenos (RA) que incluye poner en contacto el cáncer de próstata con una cantidad biológicamente eficaz de una composición que comprende al menos un inhibidor de SEMA3C.

De acuerdo con otra realización, se proporciona un uso de un inhibidor de SEMA3C para la preparación de un medicamento para tratar el cáncer de próstata.

De acuerdo con otra realización, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un inhibidor de SEMA3C en combinación con un vehículo fisiológicamente aceptable. De acuerdo con otra realización, se proporciona un envase comercial que incluye un inhibidor de SEMA3C y que incluye opcionalmente instrucciones para el uso en el tratamiento de cáncer de próstata.

De acuerdo con otra realización, se proporcionan ácidos nucleicos y aminoácidos aislados tal como se describen en el presente documento. Por ejemplo, las SEQ ID NO: 2 y 5-119.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a métodos para el tratamiento de un paciente que padece cáncer de próstata o está en riesgo de desarrollar cáncer de próstata. Dichos métodos pueden comprender la reducción de la expresión y/o interferir con la función biológica de SEMA3C. En una realización, el método comprende proporcionar al paciente un oligonucleótido antisentido o un polinucleótido complementario a SEMA3C o un segmento de los mismos. Por ejemplo, puede proporcionarse un polinucleótido antisentido al paciente a través de la entrega de un vector que expresa un polinucleótido antisentido de SEMA3C o un fragmento del mismo. En otra realización, el método comprende proporcionar al paciente un anticuerpo, un derivado de anticuerpo o fragmento de anticuerpo, que se une específicamente con la proteína SEMA3C o un fragmento de la proteína. En otra realización, el anticuerpo, derivado de anticuerpo o fragmento de anticuerpo se une específicamente con una proteína que tiene la secuencia de una SEQ ID NO: 3 o un fragmento de SEMA3C.

El cáncer de próstata puede ser un cáncer de próstata positivo para el receptor de andrógenos (RA). El cáncer de próstata puede ser un cáncer de próstata dependiente de andrógenos. El cáncer de próstata puede ser un adenocarcinoma de próstata. El cáncer de próstata puede ser un adenocarcinoma de próstata positivo para el RA. El cáncer de próstata puede ser un adenocarcinoma de próstata dependiente de andrógenos. Como alternativa, el cáncer puede ser otro tipo de cáncer tal como se describe en el presente documento. El cáncer puede ser un cáncer positivo para el RA. El cáncer puede ser un cáncer dependiente de andrógenos.

El inhibidor de SEMA3C puede seleccionarse entre uno o más de los siguientes: un anticuerpo, un péptido de SEMA3C, un ARN antisentido, un ARN de interferencia (ARNi) (por ejemplo, pero no limitado a: un ARNip; un ARNipsi; un ARNipt; un híbrido ARN-ADN quimérico; un ARNtr; un ARNbc sustrato de Dicer; un ARNh; un ARNt-ARNh; un ARNia; un pre-miARN; un mimético de pri-miRNA; un conglomerado de miméticos de pri-miARN; un silenciamiento génico transcripcional (SGT); y combinaciones de los mismos), una molécula pequeña o combinaciones de los mismos. El anticuerpo puede seleccionarse entre uno o más de los siguientes: un anticuerpo policlonal; un anticuerpo monoclonal; o un fragmento del mismo; una región Fc monocatenario (scFc); o un intracuerpo. El ARN antisentido puede incluir aproximadamente de 15 a 50 nucleótidos que son idénticos en al menos un 80 % a cualesquiera 15 a 50 nucleótidos contiguos seleccionados entre la SEQ ID NO: 4. El ARN antisentido puede incluir aproximadamente de 17 a 30 nucleótidos que son idénticos en al menos un 80 % a cualesquiera 17 a 30 nucleótidos contiguos seleccionados entre la SEQ ID NO: 4. El ARN antisentido puede incluir aproximadamente de 19 a 25 nucleótidos que son idénticos en al menos un 80 % a cualesquiera 19 a 25 nucleótidos contiguos seleccionados entre la SEQ ID NO: 4. El ARN antisentido puede incluir los nucleótidos de la SEQ ID NO: 2. Como alternativa, el RNA antisentido puede incluir uno o más de los nucleótidos expuestos en la TABLA 2 (SEQ ID NO: 5-119) o una secuencia idéntica en al menos un 80 % a la misma. El ARNi que inhibe SEMA3C puede incluir una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido, aproximadamente de 15 a 50 nucleótidos y

en el que la cadena sentido puede ser idéntica en al menos un 80 % a cualesquiera 15 a 50 nucleótidos contiguos seleccionada entre SEQ ID NO: 4. El ARNi que inhibe SEMA3C puede incluir una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido, aproximadamente de 17 a 30 nucleótidos y en la que la cadena sentido puede ser idéntica en al menos un 80 % a cualesquiera 17 a 30 nucleótidos contiguos seleccionados entre la SEQ ID NO: 4. El ARNi que inhibe SEMA3C puede incluir una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido, aproximadamente de 19 a 25 nucleótidos y en la que la cadena sentido puede ser idéntica en al menos un 80 % a cualesquiera 19 a 25 nucleótidos contiguos seleccionados entre la SEQ ID NO: 4. El ARNi que inhibe SEMA3C puede incluir una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido y en la que la cadena sentido puede ser la SEQ ID NO: 2. Como alternativa, el ARNi que inhibe SEMA3C puede incluir una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido y en la que la cadena sentido puede seleccionarse entre la Tabla 2 (SEQ ID NO: 5-119) o una secuencia idéntica en al menos un 80 % idéntica a las mismas. La molécula pequeña puede ser 2-bromo-N-(2-metoxifenil)propanamida.

[illegible]

menos 260 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 265 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 270 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 275 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 280 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 285 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 290 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 295 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 300 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 305 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 310 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 315 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 320 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 325 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 330 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 335 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 340 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 345 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 350 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 355 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 360 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 365 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 370 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 375 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 380 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 385 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 390 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 395 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 400 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 405 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 410 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 415 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 420 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 425 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 430 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 435 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 440 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 445 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 450 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 455 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 460 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 465 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 470 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 475 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 480 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 485 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 490 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir al menos 495 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3. El péptido de SEMA3C puede incluir todo el dominio SEMA tal como se expone en la SEQ ID NO: 3. Como alternativa, el péptido de SEMA3C puede incluir un péptido que tenga al menos un 80 % de identidad con la SEQ ID NO: 3 y que tenga actividad inhibidora de SEMA3C o que tenga una secuencia sustancialmente similar a la SEQ ID NO: 3 o un fragmento de la misma tal como se ha expuesto anteriormente y que tenga actividad inhibidora de SEMA3C.

En algunas realizaciones, la cadena sentido de cada ARN de interferencia comprende o consiste independientemente en una o más de las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 2, 5-119. En realizaciones relacionadas, la cadena sentido de cada ARN de interferencia comprende o consiste independientemente en al menos aproximadamente 15 nucleótidos contiguos (por ejemplo, al menos 15, 16, 17, 18 o 19 nucleótidos contiguos) de una o más de las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 2, 5-119. En realizaciones particulares, la cadena sentido de cada ARN de interferencia puede comprender o consistir independientemente en de aproximadamente 22 a aproximadamente 28 nucleótidos (por ejemplo, 22, 23, 24, 25, 26, 27 o 28 nucleótidos) de longitud. En ciertos casos, la cadena sentido de cada ARN de interferencia tiene un saliente 3' modificado (por ejemplo, 2'OMe) y/o sin

modificar de 1, 2, 3 o 4 nucleótidos o tiene terminación roma en el extremo 3'. Un experto en la materia apreciará que la secuencia de la cadena sentido puede comprender o consistir en al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 o más nucleótidos adicionales en el extremo 5' y/o 3' de una de las secuencias descritas en el presente documento.

5 En el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden uno o una combinación de ARNi (ARNbc) o moléculas de ARN antisentido (ARNmc) que expresan en gen de SEMA3C y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 La entrega de una partícula de ácido nucleico-lípido que se dirige a la expresión del gen de SEMA3C puede conseguirse con una partícula lipídica. La partícula de ácido nucleico-lípido puede comprender uno o más ARN de interferencia sin modificar y/o modificados que silencien la expresión génica de SEMA3C, un lípido catiónico y un lípido no catiónico. En ciertos casos, la partícula de ácido nucleico-lípido comprende adicionalmente un lípido conjugado que inhibe la agregación de las partículas como se sabe en la técnica. Como alternativa, la partícula de
15 ácido nucleico-lípido comprende uno o más ARN de interferencia sin modificar y/o modificados que silencian la expresión del gen de SEMA3C, un lípido catiónico, un lípido no catiónico y un lípido conjugado que inhibe la agregación de las partículas. No todas las realizaciones descritas anteriormente son parte de la materia objeto reivindicada. La invención es como se define en las reivindicaciones.

20 Breve descripción de los dibujos

La **Figura 1.** muestra una transferencia Western de la proteína SEMA3C y un gráfico de barras de los niveles relativos de ARNm aumentados en las células C4-2 y DU145 refractarias a hormonas, pero no en las células LNCaP sensibles a andrógenos y las células BPH-1 benignas. Las células se cultivaron durante 40 horas en medio FBS al 10 % y después las células se recogieron y se determinó la expresión del ARNm de SEMA3C por
25 PCR cuantitativa. Los lisados celulares se hicieron después de 6 horas de tratamiento con Brefeldina A y los niveles de proteína SEMA3C se determinaron mediante transferencia Western.

La **Figura 2. A** muestra un análisis de árbol génico, donde CLU modula genes dependientes de NF- κ B, y donde los genes se agrupan en función de si hubo una ganancia o pérdida de función de sCLU-2. La lista de genes se creó mediante la comparación de los genes regulados positivamente 2 veces cuando se sobreexpresó sCLU-2 (LNsimulado parental frente a LNCLU2, n = 2 réplicas biológicas) con genes regulados negativamente 2 veces cuando se atenuó el gen sCLU-2 (Scr frente a ARNip, n = 2). Los datos de Imagen se analizaron en GeneSpring 6.1 (Silicon Genetics, Redwood City, CA) usando una normalización dependiente de la intensidad por mancha y por chip (Lowess) para perfilar cambios significativos en la expresión génica. Se realizaron dos tipos de análisis en GeneSpring: supervisado (corrección de fondo, la normalización de Lowess, ensayo t de confianza, ensayo de comparación múltiple de Benjamini Hochberg y factor de cambio); y no supervisado (corrección de fondo, normalización por mancha, agrupación jerárquica de árbol génico usando la correlación convencional). **B** muestra una validación de transferencia Northern de cambios de expresión génica.

La **Figura 3.** muestra un aumento de SEMA3C en la transferencia de Western después de la privación de andrógenos en células LNCaP que se cultivaron en medio CSS al 5 % y se recogieron a intervalos de 24 horas cada uno hasta 72 horas. La expresión de SEMA3C se determinó por inmunotransferencia con un control de Vinculina.

La **Figura 4. A** muestra campos microscópicos representativos de inmunotinción de SEMA3C en una micromatriz de tejido de cáncer de próstata humano. En la mayoría de las células tumorales de las micrografías **a-c**, la inmunorreactividad es muy débil, pero la micrografía **d** muestra el cáncer de próstata después de 6 meses de terapia hormonal neoadyuvante (THN) con inmunorreactividad más intensa de las glándulas cancerosas y la micrografía **e** muestra tumores independientes de andrógenos altamente, intensivamente y uniformemente reactivos. **B** muestra un gráfico de barras de la tinción media de Semaforina 3C después de la ablación de andrógenos. Las muestras se calificaron con una intensidad de 0 a 3 que representa el intervalo desde no tinción hasta tinción intensa por puntuación visual y análisis de imágenes cuantitativo automatizado mediante el software pro-plusimage. Se usaron datos de 232 muestras para calcular el promedio $\pm$ DT. Todas las comparaciones de intensidad de la tinción se realizaron con un aumento de x200. Los asteriscos indican las significaciones entre los grupos (*, P < 0,05).

La **Figura 5.** muestra que el tratamiento con oligonucleótidos antisentidos (ONC) regula negativamente la expresión de SEMA3C. **A** muestra células que fueron tratadas a diario con concentraciones indicadas de ONC de SEMA3C o controles de ONC revueltos (Scr) durante 2 días. Se extrajo ARN total de células de cultivo 24 horas después de la transfección y el efecto de atenuación génica por ONC de SEMA3C se analizó por PCR cuantitativa. Se muestran los niveles de ARNm para las células tratadas con oligofectamina solamente que se consideró como 1 en cada una de las líneas celulares. **B** muestra la secreción de Semaforina 3C de células C4-2, 48 horas después de la transfección por ONC en comparación con ONC revueltos (Scr) como se evalúa mediante transferencia Western, con un control de Vinculina.

La **Figura 6.** muestra gráficos de líneas de % de crecimiento celular en células LNCaP, C4-2 y DU145 después

del tratamiento con ONC de SEMA3C y Scr a diversas concentraciones (dependiente de la dosis).

La **Figura 7.** muestra que el silenciamiento de la Semaforina 3C induce apoptosis. **A** muestra un gráfico para el % de células que son sub G0/G1 para las células LNCaP, C4-2 y DU145 tratadas con diferentes concentraciones (50 nM, 100 nM y 250 nM) de ONC de SEMA3C en comparación con 250 nM de Scr y oligofectamina a las 48 horas después de la transfección, como se analizó por citometría de flujo. **B** muestra una transferencia Western de células DU145 que fueron tratadas con diversas concentraciones de ONC en comparación con Scr y oligofectamina a las cuarenta y ocho horas después de la transfección, cuando se analizaron los lisados celulares de células tratadas para determinar la caspasa-3, -8, -9, PARP escindida y GAPDH usando anticuerpos específicos.

La **Figura 8.** muestra que SEMA3C recombinante es capaz de rescatar la inhibición del crecimiento celular inducido por ONC de SEMA3C. A la izquierda se muestra una inmunotransferencia de SEMA3C de medios acondicionados procedentes de células LNCaP transducidas con vector vacío (CTL) o lentivirus que expresa SEMA3C (OE). A la derecha, un gráfico de barras muestra que la inhibición del crecimiento celular inducida por el tratamiento con ONC se invierte mediante la adición de medio acondicionado con SEMA3C (MA), pero no con medio acondicionado que carece de SEMA3C.

La **Figura 9.** muestra que la semaforina 3C aumenta el crecimiento celular en células LNCaP. **A** muestra una transferencia Western que confirma que el ADNc de longitud completa para Semaforina 3C humana se subclonó en el vector lentivírico pFUGWBW en comparación con el control simulado (con control positivo de Vinculina). Cinco días después del tratamiento con blasticidina, las células se cultivaron durante 48 horas en medio FBS al 10 % y la proteína se extrajo a partir de células cultivadas 6 horas después del tratamiento con BFA y Semaforina 3C y los niveles de proteína vinculina se analizaron por transferencia Western. **B** muestra un gráfico de recuento de células para LNCaP que sobreexpresan SEMA3C (LNCaP-sema3C) y células transducidas con vector vacío (LNCaP simuladas) cultivadas en medio FBS al 10 %, donde el recuento de células se realizó a intervalos de 2 días cada uno hasta el día 7 (* los asteriscos indican significaciones entre los grupos (*, P <0,05)). **C** muestra fotomicrografías de cada tipo celular tomadas el día 7. **D** muestra un gráfico de barras de un análisis de ciclo celular realizado por citometría de flujo de la incorporación de bromodesoxiuridina y la tinción con yoduro de propidio de células LNCaP-Sema3C y LNCaP simuladas, donde la significación estadística se indica mediante asteriscos (*, P <0,05). **E** muestra un gráfico de barras del % de crecimiento celular de veinticuatro horas después del cultivo en medio FBS al 10 %, se cultivaron células DU145 cada una en medio acondicionado (MA) a partir de LNCaP-vacío (MA control) o Semaforina 3C (MA de Sema3C) durante 3 días. Cada MA se fabricó a partir del medio de cultivo de cada una de las células cultivadas en medio sin suero durante 3 días.

La **Figura 10.** muestra el efecto del tratamiento con ONC de Semaforina 3C sobre el crecimiento del tumor LNCaP *in vivo*. **A** y **B** muestran valores de volumen tumoral y PSA, respectivamente, para ratones que tienen tumores LNCaP seleccionados al azar para el tratamiento con ONC de Semaforina 3C (ONC de SEMA3C) u ONC revueltos (Scr). Los ratones se castraron en un umbral de PSA de 75 ng/l y el volumen tumoral y el PSA sérico se controlaron semanalmente. Se inyectaron ONC de Semaforina 3C u ONC revueltos por vía intraperitoneal (12,5 mg/kg/ratón) a intervalos de 2 días durante 6 semanas y el volumen tumoral se calculó mediante la fórmula: longitud x anchura x profundidad x 0,5236. Puntos, volumen tumoral medio en cada grupo experimental que contenía 10 ratones; barras, DT. * difiere del control revuelto (P <0,05) mediante el ensayo t de Student. **C** muestran imágenes de ratones representativos después del tratamiento con ONC de SEMA3C y Scr.

La **Figura 11.** muestra que un dominio SEMA truncada que contiene mutante SEMA3C actúa como un potente inhibidor del crecimiento celular de LNCaP en un diagrama de líneas de la proliferación de células LNCaP cultivadas en presencia de medio acondicionado a partir de células HEK-293T transducidas lentivíricamente estables que expresan Sema3C de longitud completa (LC - SEQ ID NO: 1), dominio Sema (DSH - posición 1-495 de SEMA3C de longitud completa, SEQ ID NO: 3) o vector vacío en el tiempo como se controla mediante la incorporación de 3H-timidina.

La **Figura 12** muestra que la Semaforina 3C potencia la eficiencia del cultivo en placas de células LNCaP en agar blando. **A** muestra una transferencia Western de la expresión de Semaforina 3C en células LNCaP, para el vector expresado en lentivirus solo (calle 1), Semaforina 3C, de longitud completa (calle 3, LC) y dominio Sema (calle 2, DS) detectado usando anticuerpo Sema3C (N20) (de Santa Cruz Biotechnology Inc.). **B** muestra gráficos de barras del % de eficiencia del cultivo en placas de las células LNCaP (5000) cultivadas en placas en agarosa al 0,7 % que contenía FBS al 4 %, donde las colonias se contaron cuatro semanas después de la siembra. Las barras representan la Media y el ETM (n >5) de la eficiencia del cultivo en placas (%) de células LNCaP que expresan longitud completa estable (panel izquierdo) o el Dominio Sema (panel derecho) de Semaforina 3C con respecto a células LNCaP que expresan el vector solo (control). Los datos son representativos de los resultados típicos observados en más de tres experimentos independientes (* P <0,01). **C** muestra un gráfico de líneas que representa la proliferación de células LNCaP durante un tiempo de 6 días, expresando las células LNCaP (500/pocillo) el vector solo o el Dominio Sema de la SEMA3C. Las células LNCaP se sembraron en placas de 48 pocillos en medio RPMI que contenía suero al 1 % y el crecimiento celular (fluorescencia) se controló usando el kit de ensayo de proliferación celular CyQuant (Invitrogen, Mississauga), donde los puntos de datos representan

la media y el ETM de fluorescencia de los duplicados (n = 4).

La **Figura 13** muestra que la proteína de fusión Semaforina 3C:fosfatasa alcalina (APSema3C) tiene una unión específica a células DU145. **A** muestra una Transferencia Western de APSema3C expresada en células 293T detectada usando el anticuerpo monoclonal anti-His THE™ (GeneScript Corp. NJ.). **B** muestra una Transferencia Western de la expresión de la proteína de fusión dominio Sema de Semaforina 3C:Fc en células 293T usando un anticuerpo anti-región Fc de IgG humana (R & D Systems, MN). **C** es un gráfico de líneas que muestra la unión de APSEMA3C y AP (fosfatasa alcalina) sola en células DU145 como se mide por la actividad de la fosfatasa alcalina. **D** muestra 4 gráficos de barras de unión competitiva al receptor de superficie celular usando un ensayo de actividad de la fosfatasa alcalina, donde esta unión puede liberarse por competencia mediante la adición de o bien proteína de fusión dominio Sema:Fc (parte superior izquierda), proteína Semaforina 3C de longitud completa (superior derecha) o monoclonal anti Semaforina 3C de ratón (parte inferior izquierda) (R & D Diagnostics, MN), pero no mediante IgG2b anti-ratón de rata (parte inferior derecha) (Sigma).

La **Figura 14** muestra que la Semaforina 3C señala a través los receptores de proteína tirosina cinasa MET y RON en células DU145 y PC3 y a través de EGFR en células LNCaP. **A** muestra el curso temporal de las células DU145 y PC3 estimuladas con Semaforina 3C en Transferencias Western de fosforilación de MET en LCE (20 µg) como se detecta con transferencias de anticuerpos fosfo-Met (Cell Signaling). Se volvieron a sondear con MET total y actina como control de carga. **B** muestra que LCE (1,0 mg) de células DU145 estimuladas con Semaforina 3C (10 min) o tratadas simuladamente se inmunoprecipitó con anti fosfo-tirosina (clon 4G10) o MET y las Transferencias Western se sondaron con cualquiera de MET, RON (Santa Cruz) o anti-fosfotirosina (4G10, Millipore) y fosfo-MET (Cell Signaling). **C** muestra que LCE (1,0 mg) se inmunoprecipitó a partir de células LNCaP de control o tratadas con Semaforina 3C (10 min) en Transferencia Western que muestra la fosforilación de EGFR usando anti-fosfo-EGFR (tirosina 1148, Cell Signaling). La transferencia se volvió a sondear con anticuerpos de EGFR totales (Santa Cruz) para demostrar que se inmunoprecipitaron cantidades iguales de EGFR.

La **Figura 15** muestra transferencias Western en las que la fosforilación de tirosina mediada por Semaforina 3C de MET es inhibida por la proteína de fusión dominio Sema:Fc. Se privaron de suero células DU145 durante 48 horas y, después, las células se preincubaron durante 1 hora, ya sea en medio solo o en presencia de dominio Sema:Fc (100 µg/ml) y las células después se trataron simuladamente o se estimularon con Semaforina 3C (1:10) durante 10 min a 37 °C, CO2 al 5 %. Se inmunoprecipitaron lisados celulares (1000 µg) con anti-MET y se analizaron mediante transferencia Western usando anti-pMET y la transferencia se volvió a sondear con anti-MET para control de carga.

La **Figura 16** muestra un gráfico de barras que representa la proliferación de células LNCaP, donde las células se trataron con anticuerpo monoclonal anti-Semaforina 3C de ratón (R & D Diagnostics, MN) y anti-IgGκ de ratón (Betil Laboratories, Montgomery, TX). La proliferación se controló usando el kit de ensayo de proliferación CyQuant (Invitrogen, Mississauga, ON) y los datos representan la fluorescencia media 4 días después del tratamiento.

Descripción detallada

Definiciones

"Entrega sistémica", como se usa en el presente documento, pueden referirse a la entrega de partículas lipídicas u otros vehículos que conduce a una amplia biodistribución de un inhibidor de SEMA3C (tal como un ARN de interferencia-ARNi (ARNbc); ARN antisentido (ARNmc); anti-cuerpos (por ejemplo, MAb o MAb humanizados, intracuerpos o fragmentos de los mismos; o un péptido) dentro de un organismo. Algunas técnicas de administración pueden conducir a la administración sistémica de determinados agentes, pero no de otros. La entrega sistémica significa que una cantidad útil, preferentemente terapéutica, de un agente se expone a la mayoría de las partes del cuerpo. Obtener una biodistribución amplia generalmente requiere una semivida en sangre de manera que el agente no se degrade o se aclare rápidamente (tal como por los órganos de primer paso (hígado, pulmón, etc.) o por unión celular rápida, no específica) antes de alcanzar un sitio de enfermedad distal al sitio de administración. La entrega sistémica de SEMA3C puede ser por cualquier medio conocido en la técnica incluyendo, por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea e intraperitoneal. En una realización, la entrega sistémica de SEMA3C es por entrega intravenosa.

"Entrega local", como se usa en el presente documento, se refiere a la entrega de un inhibidor de SEMA3C (tal como un ARN de interferencia-ARNi (ARNbc); ARN antisentido (ARNmc); anti-cuerpos (por ejemplo, MAb o MAb humanizados), intracuerpos o fragmentos de los mismos o un péptido) directamente a un sitio diana dentro de un organismo. Por ejemplo, un inhibidor de SEMA3C puede entregarse localmente por inyección directa en un sitio de enfermedad, otro sitio diana o un órgano diana tal como la próstata.

Como se usa en el presente documento, un "inhibidor" se refiere a un agente que restringe, retarda o provoca de otro modo la inhibición de una acción o función fisiológica, química o enzimática. Un inhibidor puede provocar una

disminución de al menos un 5 % en la actividad de la enzima. Un inhibidor también puede referirse a un fármaco, compuesto o agente que evita o reduce la expresión, la transcripción o la traducción de un gen o proteína. Un inhibidor puede reducir o evitar la función de una proteína, por ejemplo mediante la unión a y/o la activación/inactivación de otra proteína o receptor. Un inhibidor puede reducir o evitar la interacción de una enzima o proteína con otra enzima o proteína. Un inhibidor puede provocar la degradación o el aclaramiento de una proteína de una célula o del cuerpo de un sujeto. Por ejemplo, un inhibidor puede unirse a la proteína y dicha unión puede dirigir la proteína para la degradación celular o para el aclaramiento del cuerpo. Un inhibidor de este tipo podría ser un anticuerpo, otra proteína o péptido o un fragmento de los mismos, otra molécula (molécula pequeña), un ácido nucleico (ARN, ADN, ANP), etc. La unión de un inhibidor a la proteína SEMA3C a la vista puede evitar que se una a su receptor afin, podría evitar otras interacciones moleculares importantes o podría alterar la conformación de la proteína. La unión de un inhibidor al receptor de la proteína también puede impedir la interacción de la proteína con el receptor y, por tanto, también inhibiría la función celular de la proteína en cuestión. Todas estas realizaciones se consideran dentro de la definición de un inhibidor y se consideran dentro del alcance de la presente invención.

La expresión "inhibidor de SEMA3C" se refiere a cualquier molécula que inhiba la proteína SEMA3C, ya sea directa o indirectamente, por ejemplo, mediante la interferencia con la actividad de SEMA3C, la regulación positiva de inhibidores endógenos y/o el apagado de la transcripción del gen *SEMA3C* o de la traducción del transcrito *SEMA3C*. Pueden usarse ADN o ARN para inhibir la proteína SEMA3C directamente (a través de aptámeros) o la transcripción/traducción de *SEMA3C*. Los inhibidores de SEMA3C incluyen, pero no se limitan a, péptidos, anticuerpos (por ejemplo, policlonales; monoclonales, o un fragmento de los mismos (tal como un F(ab')₂ o un fragmento de Fab), región Fc monocatenaria (scFc) e intracuerpos), ARN de interferencia (ARNi), moléculas antisentidos (tales como el ARN antisentido y otras moléculas de ácido nucleico), moléculas pequeñas (por ejemplo, Zinc00163599 (2-bromo-N-(2-metoxifenil)propanamida)), peptidomiméticos etc. El inhibidor de SEMA3C puede comprender adicionalmente un vehículo para facilitar la entrega y/o la dirección del inhibidor SEMA3C a la próstata.

Existen ARNip (un tipo de ARNi) disponibles en el mercado de numerosos proveedores. Por ejemplo, de Applied Biosystems (ARNip ID s20600 Prediseñado inventariado 4427037; s20598 Prediseñado inventariado 4427037; s20599 Prediseñado inventariado 4427037), Invitrogen (ARNip SEMA3C Stealth RNAi™ HSS116131; ARNip SEMA3C Stealth ARNi™ HSS116132; ARNip SEMA3C Stealth ARNi™ HSS116133) y ORIGENE (TF309560 pRFP-C-RS (vector) 29mero de Hush construcciones de ARNhc contra SEMA3C; TG309560 pGFP-V-RS (vector) 29mero de Hush construcciones de ARNhc contra SEMA3C; y TR309560 pRS (vector) 29mero de Hush construcciones de ARNhc contra SEMA3C).

Existen anticuerpos anti-SEMA3C disponibles en el mercado de numerosos proveedores. Por ejemplo, de R & D Systems (MAb de Semaforina 3C de ratón (Clon 238 835), IgG2a de rata WB MAB1728), Abcam plc (anticuerpo de Semaforina 3c (ab39300) es un anticuerpo policlonal de conejo hecho para un péptido sintético conjugado con KLH derivado de dentro de los restos 700 al extremo C de la semaforina 3c humana) y Santa Cruz Biotechnology (anticuerpo policlonal de conejo hecho para un epítipo correspondiente a los aminoácidos 592-751 que cartografían en el extremo C del precursor de SEMA3C de SEMA3C de origen humano (H-160) n.º de catálogo sc-33786). El anticuerpo monoclonal de R & D Systems detecta SEMA3C tanto de ratón como humana.

Como alternativa, el ARNi y el ARN antisentido pueden diseñarse y fabricarse mediante métodos conocidos en la técnica. De forma similar, los anticuerpos pueden diseñarse y fabricarse mediante métodos conocidos en la técnica.

Un ARN antisentido o ARNi pueden seleccionarse entre cualquier fragmento contiguo de 19-50 nucleótidos de la SEQ ID NO: 4, tal como AUGGCAUCCGGACAAUUUG (SEQ ID NO: 2) o una cualquiera o más de las secuencias expuestas en la Tabla 2 (SEQ ID NO: 5-119).

El término "aptámero", se refiere a moléculas de ácido nucleico o moléculas de péptido que son capaces de unirse a una molécula diana específica. Los aptámeros pueden elegirse entre una gran combinación de secuencias aleatorias o entre un subconjunto de secuencias específicas. Sin embargo, también existen aptámeros naturales en riborreguladores.

El término "intracuerpos", se refieren a anticuerpos intracelulares, que actúan dentro de una célula para unirse a una proteína diana intracelular. La entrega de un intracuerpo puede ser el resultado de la expresión del anticuerpo dentro de una célula diana (por ejemplo a través de terapia génica). Se conocen en la técnica métodos para diseñar intracuerpos (Marasco WA. *Gene Ther.* (1997). "*Intrabodies: turning the humoral immune system outside in for intracellular immunization*". 4(1): 11-5), incluyendo el uso de anticuerpos monocatenarios (scFv), la modificación de dominios VL de inmunoglobulina para su hiperestabilidad, la selección de anticuerpos resistentes al entorno intracelular más reductor o la expresión como proteína de fusión con una proteína de unión a maltosa u otras proteínas intracelulares estables.

La expresión "ARN de horquilla pequeña" o "ARN de horquilla corta" (ARNhc) se refiere a una secuencia de ARN que tiene una vuelta de horquilla que puede usarse para silenciar la expresión génica a través del ARN de interferencia. El ARNhc puede introducirse en una célula o células en un vector. Puede usarse un promotor U6 para asegurar que el ARNhc se exprese. Un vector que contiene el ARNhc puede hacerse pasar a células de la progenie,

que pueden proporcionar silenciamiento génico heredado. La estructura de horquilla del ARNhc puede escindirse por la maquinaria celular para formar "ARN de interferencia pequeños" (ARNip), que después se une al complejo de silenciamiento inducido por ARN (CSIA). El complejo CSIA es capaz de unirse a y escindir ARNm a los que está unido el ARNip. El diseño y los métodos para la fabricación de ARN de interferencia (por ejemplo, ARNip, siARNip, ARNipt, híbrido ARN-ADN quimérico, tkRNA, ARNbc sustrato de Dicer, ARNhc, ARNt-ARNhc, ARNia; pre-miARN; mimético de pri-miRNA; conglomerado de miméticos de pri-miARN; silenciamiento génico transcripcional (SGT) y combinaciones de los mismos) son bien conocidos en la técnica (por ejemplo, McIntyre, GJ. y Fanning, GC. *BMC Biotechnol.* (2006) 6: 1; Paddison P. et al. *Genes and Development* (2002) 16 (8): 948-58; Yi R. et al. *Genes & Development* (2003) 17 (24): 3011-3016; Elbashir S. et al. *Genes Dev* (2001) 15 (2): 188-200; Zamore P. et al. *Cell* (2000) 101 (1): 25-33; Henschel A. et al. *Nucleic Acids Res.* (2004) 32 (número de servidor de internet): W113-20 "DEQOR: a web-based tool for the design and quality control of siRNAs"; Sibley CR. et al. *Molecular Therapy* (2010) 18 (3): 466-476).

Como se usa en el presente documento un "sujeto" se refiere a un animal, tal como un pájaro o un mamífero. Los animales específicos incluyen rata, ratón, perro, gato, vaca, oveja, caballo, cerdo o primate. Un sujeto puede ser, además, un ser humano, denominado como alternativa un paciente. Un sujeto puede ser, además, un animal transgénico. Un sujeto puede ser, además, un roedor, tal como un ratón o una rata.

Como se ha descrito previamente, SEMA3C es un miembro de la familia de proteínas de las semaforinas. Como se usa en el presente documento, 'SEMA3C', denominada como alternativa 'semaforina 3C' se refiere al producto génico del gen de la semaforina 3C. El homólogo humano de este gen está representado por EntrezGene n.º 10512 y el número de registro de la proteína GenBank asociada es Q99985.2 (SEQ ID NO: 1). La SEMA3C de *Mus musculus* está representada por EntrezGene n.º 20348, número de registro de la proteína GenBank Q62181.1. Otros homólogos de SEMA3C serán evidentes para un experto en la materia. Las semaforinas se caracterizan normalmente por elementos estructurales y funcionales distintivos denominados 'dominios SEMA' (Gherardi et al).

El ARN puede ser monocatenario, bicatenario, sintético, aislado, parcialmente aislado, esencialmente puro o recombinante. Los compuestos de ARN pueden ser de origen natural o pueden estar alterados de manera que se diferencien de los compuestos de ARN de origen natural. Las alteraciones pueden incluir la adición, delección, sustitución o modificación de los nucleótidos existentes. Dichos nucleótidos pueden ser de origen natural o nucleótidos de origen no natural. Las alteraciones también pueden implicar la adición de material no nucleotídico, por ejemplo en el extremo o extremos de un compuesto de ARN existente o en un sitio que es interno al compuesto de ARN (es decir, en uno o más nucleótidos).

Los compuestos de ARN de la invención son susceptibles de modulación específica de diana de la expresión génica y normalmente ejercen su efecto ya sea por mediación de la degradación de los productos de ARNm del gen diana o evitando la traducción de proteínas a partir del ARNm del gen diana. Dichos compuestos de ARN también pueden denominarse, por tanto, 'compuestos de interferencia de ARN'. El efecto global de interferencia con la función de ARNm es la modulación de la expresión del producto de un gen diana. En el contexto de la presente invención, 'modulación' significa o bien la inhibición o bien la estimulación -es decir, o bien una disminución o bien un aumento en la expresión. Esta modulación puede medirse en formas que son habituales en la técnica, por ejemplo mediante ensayo de transferencia Northern o PCR con transcriptasa inversa de la expresión de ARNm, transferencia Western o ensayo ELISA de expresión de proteínas, o mediante un ensayo de inmunoprecipitación de expresión de proteínas. También pueden medirse efectos sobre la proliferación celular, la viabilidad celular o el crecimiento tumoral.

Los compuestos de ARN antisentido son normalmente compuestos de ARN monocatenario que se unen a compuestos de ARN complementarios, tales como moléculas de ARNm diana, y bloquean la traducción de los compuestos de ARN complementarios interfiriendo posteriormente con la maquinaria de traducción normal. Este proceso puede ser pasivo, en que no requiere o implica enzimas adicionales para mediar el proceso de interferencia del ARN. La dirección específica de compuestos de ARN antisentido para inhibir la expresión de un gen deseado generalmente puede implicar el diseño del compuesto de ARN antisentido para tener una secuencia complementaria, homóloga, al gen deseado. No es necesaria la homología perfecta para el efecto de interferencia del ARN. En una realización, los compuestos de ARN antisentido incluyen cualquier compuesto de ARN con suficiente homología complementaria a SEMA3C para unirse al transcripto de ARNm de SEMA3C provocando una reducción en la traducción de la proteína SEMA3C.

Los compuestos de ARN pueden ser compuestos de ARN de interferencia (ARNi). Normalmente, ARNi, dichos compuestos de ARNip son compuestos de ARN bicatenario corto de entre 4 y 50 nucleótidos de longitud. Como alternativa, los compuestos de ARNip tienen de entre 16 y 29 nucleótidos de longitud, incluso más preferentemente entre 18 y 23 nucleótidos de longitud y mucho más preferentemente entre 21 y 23 nucleótidos de longitud. Los compuestos de ARNip pueden incluir nucleótidos cortos 'salientes' en cada extremo, que son extensiones monocatenarias que no están emparejadas con una base complementaria en la cadena opuesta. Como alternativa, los salientes estarían en el extremo 3' de cada cadena del compuesto de ARNip y normalmente tienen 1-3 nucleótidos de longitud. Los compuestos de ARNip de la presente invención pueden sintetizarse como cadenas individuales que están posteriormente se hibridan para producir el compuesto de ARNip bicatenario. Como

alternativa, los compuestos de ARNip pueden derivar de una molécula de ARN de horquilla corta (ARNhc) o de un compuesto de ARN más largo, que ha sido procesado por la enzima celular denominada dicer, que procesa los compuestos de ARN más largos para producir compuestos de ARNip. Generalmente, los compuestos de ARNip median la interferencia de ARN a través de un proceso dependiente de enzimas en el que el ARNm diana se degrada, de manera que ya no puede traducirse a su producto proteico asociado. Sin quedar ligado por la teoría, los compuestos de ARNip bicatenarios se separan en moléculas monocatenarias y se integran en un 'complejo CSIA' activado. Después de la integración en el CSIA, los ARNips emparejan sus bases con su ARNm diana e inducen la escisión del ARNm, evitando de este modo que sea utilizado como una plantilla de traducción.

El diseño de compuestos de ARN antisentido y ARNi específicos de genes, incluyendo la selección de secuencia de nucleótidos y adicionalmente las alteraciones apropiadas, sería conocidos por un experto en la materia y es como se describe en el presente documento. Pueden encontrarse ejemplos de ARN de SEMA3C en la SEQ ID NO: 2 y en la Tabla 2 (SEQ ID NO: 5-119). La dirección específica de compuestos de ARNip para modular la expresión de un gen deseado generalmente se relaciona con el grado de homología entre el compuesto de ARNip y el gen diana. Las características de diseño para optimizar la eficacia y la especificidad de un compuesto de ARN antisentido puede depender de la secuencia específica elegida para el diseño del compuesto de ARN. Se encuentran numerosos ejemplos de métodos para el diseño y la optimización de compuestos de ARN antisentido en la bibliografía de revistas - es decir (Pan y Clawson 2006; Patzel 2007; Peek y Behlke 2007). También existen muchas herramientas informáticas para el diseño de compuestos de ARN antisentido, que pueden, por ejemplo, usar algoritmos u otras fórmulas basadas en reglas para determinar compuestos de ARN antisentido óptimos. Por tanto, estaría dentro de la experiencia de un experto en la técnica diseñar un gran número de diferentes compuestos de ARN antisentido que se esperarían que inhiban un gen diana. La complementariedad de secuencia exacta no es necesaria para que el compuesto de ARNip module la expresión del gen diana. En algunas realizaciones, los compuestos de ARN antisentido incluyen cualquier compuesto de ARN que lleve homología de secuencia con el gen de SEMA3C y que sea capaz de modular la expresión de la proteína SEMA3C. En el presente documento se proporcionan ejemplos no limitantes de compuestos de ARN que modulan la expresión de SEMA3C y, por tanto, son inhibidores de SEMA3C. Los inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento también pueden ser compuestos de interferencia de ADN. Dichos compuestos tienen propiedades similares a los compuestos de interferencia de ARN, como se describen en la técnica.

Los términos "péptido", "polipéptido" y "proteína" pueden usarse indistintamente y se refieren a un compuesto comprendido por al menos dos restos de aminoácidos unidos covalentemente mediante enlaces peptídicos o enlaces peptídicos modificados, por ejemplo isómeros de péptidos (enlaces peptídicos modificados) que pueden proporcionar propiedades deseadas adicionales al péptido, tal como una semivida aumentada. Un péptido puede comprender al menos dos aminoácidos. Los aminoácidos que comprenden un péptido o una proteína descritos en el presente documento también pueden estar modificados ya sea por procesos naturales, tales como procesamiento postraduccional o mediante técnicas de modificación química que son bien conocidas en la técnica. Las modificaciones pueden producirse en cualquier parte en un péptido, incluyendo la estructura principal peptídica, las cadenas laterales de aminoácidos y los extremos amino o carboxilo. Se entiende que el mismo tipo de modificación puede estar presente en grados iguales o diferentes en varios sitios en un péptido dado.

Los ejemplos de modificaciones de los péptidos pueden incluir acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, unión covalente de flavina, unión covalente de un resto hemo, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o derivado de lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, entrecruzamiento, ciclación, formación de enlaces disulfuro, desmetilación, formación de entrecruzamientos covalentes, formación de cistina, formación de piroglutamato, formilación, gamma-carboxilación, glicosilación, formación de anclajes GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, adición mediada por ARN de transferencia de aminoácidos a proteínas tal como arginilación y ubiquitinación. Véase, por ejemplo, *Proteins-Structure and Molecular Properties*, 2ª ed, T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, Nueva York, 1993 y Wold F, *Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects*, págs. 1-12 en *Posttranslational Covalent Modification of Proteins*, B. C. Johnson, editor, Academic Press, Nueva York., 1983; Seifter et al., *Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors*, *Meth. Enzymol.* (1990) 182: 626-646 y Rattan et al. (1992), *Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging*, *"Ann NY Acad Sci* 663: 48-62.

Una "secuencia sustancialmente similar" se refiere a una secuencia de aminoácidos que difiere de una secuencia de referencia solamente por una o más sustituciones, pero que, por ejemplo, puede ser funcionalmente homóloga a otra secuencia sustancialmente similar. Se apreciarán por un experto en la materia los aspectos de los aminoácidos individuales en un péptido de la invención que puede estar sustituido.

La similitud o identidad de secuencia de aminoácidos puede calcularse usando los programas BLASTP y TBLASTN que emplean el algoritmo BLAST (herramienta básica de búsqueda de alineamiento local, por sus siglas en inglés) 2.0. Las técnicas para el cálculo de la similitud o identidad de secuencia de aminoácidos son bien conocidas por los expertos en la materia y el uso del algoritmo BLAST se describe en ALTSCUL et al. 1990, *J Mol. Biol.* 215: 403-410 y ALTSCUL et al. (1997), *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402.

Los aminoácidos pueden describirse como, por ejemplo, polares, no polares, ácidos, básicos, aromáticos o neutrales. Un aminoácido polar es un aminoácido que puede interactuar con agua mediante enlaces de hidrógeno a pH biológico o casi neutro. La polaridad de un aminoácido es un indicador del grado de enlaces de hidrógeno a pH biológico o casi neutro. Los ejemplos de aminoácidos polares incluyen serina, prolina, treonina, cisteína, asparagina, glutamina, lisina, histidina, arginina, como aspartato, tirosina y glutamato. Los ejemplos de aminoácidos no polares incluyen glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina y triptófano. Los aminoácidos ácidos tienen una carga negativa neta a un pH neutro. Los ejemplos de aminoácidos ácidos incluyen aspartato y glutamato. Los aminoácidos básicos tienen una carga positiva neta a un pH neutro. Los ejemplos de aminoácidos básicos incluyen arginina, lisina e histidina. Los aminoácidos aromáticos generalmente son no polares y pueden participar en interacciones hidrófobas. Los ejemplos de aminoácidos aromáticos incluyen fenilalanina, tirosina y triptófano. La tirosina también puede participar en enlaces de hidrógeno a través del grupo hidroxilo en la cadena lateral aromática. Los aminoácidos alifáticos neutros generalmente son no polar e hidrófobos. Los ejemplos de aminoácidos neutros incluyen alanina, valina, leucina, isoleucina y metionina. Un aminoácido puede describirse por más de una categoría descriptiva. Los aminoácidos que comparten una categoría descriptiva común pueden ser sustituibles entre sí en un péptido.

La nomenclatura utilizada para describir los compuestos peptídicos de la presente invención sigue la práctica convencional en la que el grupo amino se presenta a la izquierda y el grupo carboxi a la derecha de cada resto de aminoácido. En las secuencias que representan realizaciones específicas seleccionadas de la presente invención, se entenderá que los grupos amino y carboxi terminales, aunque no se muestren específicamente, están en la forma que asumirían a valores de pH fisiológicos, a menos que se especifique lo contrario. En las fórmulas de estructura de aminoácidos, cada resto puede estar representado generalmente por una designación de una letra o de tres letras, correspondientes al nombre trivial del aminoácido, de acuerdo con la Tabla 1.

Tabla 1 Nomenclatura y abreviaturas de los 20 aminoácidos L convencionales que se encuentran habitualmente en péptidos de origen natural.

Nombre completo	Abreviatura de tres letras	Abreviatura de una letra
Alanina	Ala	A
Cisteína	Cys	C
Ácido aspártico	Asp	D
Ácido glutámico	Glu	E
Fenilalanina	Phe	F
Glicina	Gly	G
Histidina	Su	H
Isoleucina	Ile	I
Lisina	Lys	K
Leucina	Leu	L
Metionina	Met	M
Asparagina	Asp	N
Prolina	Pro	P
Glutamina	Gln	Q
Arginina	Arg	R
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Valina	Val	V
Triptófano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y

El índice de hidropatía de un aminoácido es una escala que indica la tendencia de un aminoácido a buscar un entorno acuoso (valor negativo) o en un entorno hidrófobo (valor positivo) (KYTE y DOOLITTLE 1982. *J Mol Biol* 157: 105-132). Los índices de hidropatía de los aminoácidos convencionales incluyen alanina (1,8), arginina (-4,5), asparagina (-3,5), ácido aspártico (-3,5), cisteína (2,5), glutamina (-3,5), ácido glutámico (-3,5), glicina (-0,4), histidina (-3,2), isoleucina (4,5), leucina (3,8), lisina (-3,9), metionina (1,9), fenilalanina (2,8), prolina (-1,6), serina (-0,8), treonina (-0,7), triptófano (-0,9), tirosina (-1,3) y valina (4,2). Los aminoácidos con índices de hidropatía similares pueden ser sustituibles entre sí en un péptido.

Con el fin de ejemplificar adicionalmente lo que se entiende por una sustitución conservadora de aminoácidos, se enumeran a continuación los Grupos A-F. El reemplazo de un miembro de los siguientes grupos por otro miembro del mismo grupo se considera que es una sustitución conservadora.

El grupo A incluye leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, serina, cisteína, treonina y aminoácidos modificados que tienen las siguientes cadenas laterales: etilo, iso-butilo, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, -

$\text{CH}_2\text{CHOHCH}_3$ y CH_2SCH_3 .

El grupo B incluye glicina, alanina, valina, serina, cisteína, treonina y un aminoácido modificado que tiene una cadena lateral de etilo.

5 El grupo C incluye fenilalanina, fenilglicina, tirosina, triptófano, ciclohexilmetilo y restos de aminoácidos modificados que tienen cadenas laterales de bencilo o fenilo sustituido.

10 El grupo D incluye ácido glutámico, ácido aspártico, un éster alifático, aromático o bencilico sustituido o no sustituido de ácido glutámico o aspártico (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, ciclohexilo, bencilo o bencilo sustituido), glutamina, asparagina, glutamina CO-NH-alquilada o asparagina (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo e iso-propilo) y aminoácidos modificados que tienen la cadena lateral $-(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$, un éster de los mismos (éster alifático, aromático o bencilico sustituido o no sustituido), una amida de los mismos y una amida N-alquilada sustituida o no sustituida de los mismos.

15 El grupo E incluye histidina, lisina, arginina, N-nitroarginina, p-cicloarginina, g-hidroxiarginina, N-amidinocitrulina, ácido 2-amino guanidinobutanoico, homólogos de lisina, homólogos de arginina y ornitina.

20 El grupo F incluye serina, treonina, cisteína y aminoácidos modificados que tienen cadenas laterales de alquilo C1-C5 lineales o ramificadas sustituidas con -OH o -SH.

Los grupos A-F son de ejemplo y no tienen la intención de limitar la invención.

25 Pueden sintetizarse péptidos o análogos de péptidos mediante técnicas químicas conocidas en la técnica, por ejemplo, mediante síntesis automatizada usando metodología de síntesis en solución o en fase sólida. Existen sintetizadores de péptidos automatizados disponibles en el mercado y usan técnicas bien conocidas en la técnica. También pueden prepararse péptidos y análogos de péptidos usando tecnología de ADN recombinante usando métodos tales como los descritos en, por ejemplo, SAMBROOK J. Y RUSSELL D. (2000) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Tercera Edición) Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York) o AUSUBEL et al. (*Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, 1994).

30 Un "peptidomimético" es un compuesto que comprende elementos estructurales no peptídicos que imita la acción biológica de un péptido parental. Un peptidomimético puede no tener características de péptidos clásicos tales como un enlace peptídico escindible enzimáticamente. Un péptido parental puede identificarse inicialmente como una secuencia de unión o sitio de fosforilación en una proteína de interés o puede ser un péptido de origen natural, por ejemplo una hormona peptídica. Los ensayos para identificar peptidomiméticos pueden incluir un péptido parental como control positivo con fines comparativos, cuando se explora una biblioteca, tal como una biblioteca peptidomimética. Una biblioteca peptidomimética es una biblioteca de compuestos que pueden tener una actividad biológica similar a la de un péptido parental.

40 Se entenderá que los aminoácidos contenidos dentro de los péptidos descritos en el presente documento están en la configuración L- o D-. En los péptidos y peptidomiméticos de la presente invención, los D-aminoácidos pueden ser sustituibles por L-aminoácidos. Los aminoácidos contenidos dentro de los péptidos de la presente invención, y en particular en el extremo carboxi o amino, pueden modificarse por metilación, amidación, acetilación o sustitución con otros grupos químicos que pueden cambiar la semivida circulante del péptido sin afectar negativamente a su actividad biológica. Adicionalmente, un enlace disulfuro puede estar presente o ausente en los péptidos de la invención. Otro enfoque para la modificación de una secuencia existente es sintetizar la versión retroinversa correspondiente. Un péptido retroinverso es uno en el que la secuencia se invierte, es decir, inversión del extremo N al C y se sintetiza usando D aminoácidos. Los análogos retroinversos de péptidos L cuando se alinean uno junto al otro de N a C y de C a N tienen todas las cadenas laterales en la misma orientación, sin embargo, los enlaces peptídicos están invertidos y no están estéricamente disponibles para la escisión por proteasas. Nair et al. 2003 *J. Immunol.* 170: 1362-1373.

55 "Ácidos nucleicos peptídicos" (ANP) como se usan en el presente documento se refieren a los ácidos nucleicos modificados en los que la estructura principal de azúcar-fosfato de un ácido nucleico se ha convertido en una estructura principal N-(2-aminoetil)-glicina. Aunque las estructuras principales de azúcar-fosfato de DNA/ARN se someten a una carga negativa en condiciones neutras que dan como resultado la repulsión electrostática entre cadenas complementarias, la estructura principal de ANP no tiene una carga inherentemente. Por tanto, no existe ninguna repulsión electrostática. En consecuencia, el ANP tiene una mayor capacidad para formar cadenas dobles en comparación con ácidos nucleicos convencionales y tiene una alta capacidad para reconocer secuencias de bases. Además, los ANP son generalmente más robustos que los ácidos nucleicos. Los ANP también pueden usarse en matrices y en otra hibridación u otras reacciones como se han descrito anteriormente y en el presente documento para los oligonucleótidos.

Como se usa en el presente documento, el término "vector" se refiere a un compuesto polinucleotídico usado para la introducción de un compuesto polinucleótido exógeno o endógeno en las células hospedadoras. Un vector comprende una secuencia de nucleótidos, que puede codificar una o más moléculas de polipéptido. Los plásmidos, cósmidos, virus y bacteriófagos, en estado natural o que han sido sometidos a ingeniería recombinante, son ejemplos no limitantes de vectores utilizados habitualmente para proporcionar vectores recombinantes que comprenden al menos una molécula de polinucleótido aislada deseada.

Las moléculas de ácido nucleico pueden insertarse en cualquier vector adecuado. Los vectores adecuados incluyen, sin limitación, vectores víricos. Los vectores víricos adecuados incluyen, sin limitación, vectores retrovíricos, alfavíricos, de vacuna, adenovíricos, víricos adenoasociados, víricos de herpes y vectores víricos de la viruela aviar. Los vectores tienen preferentemente una capacidad nativa o diseñada por ingeniería genética para transformar células eucariotas, por ejemplo, células CHO-K1. Adicionalmente, los vectores útiles en el contexto de la invención pueden ser vectores de ácido nucleico "desnudos" (es decir, vectores que tienen poco o nada de proteínas, azúcares y/o lípidos encapsulándolos), tales como plásmidos o episomas, o los vectores pueden complejarse con otras moléculas. Otras moléculas que pueden combinarse adecuadamente con los ácidos nucleicos de la invención incluyen, sin limitación recubrimientos víricos, lípidos catiónicos, liposomas, poliaminas, partículas de oro y restos de dirección, tales como ligandos, receptores o anticuerpos que se dirigen a moléculas celulares.

Pueden producirse aminoácidos no convencionales en la naturaleza y pueden o no pueden estar codificados genéticamente. Los ejemplos de aminoácidos no convencionales codificados genéticamente incluyen selenocisteína, a veces incorporada en algunas proteínas en un codón UGA, que normalmente puede ser un codón de parada o pirrolisina, a veces incorporada en algunas proteínas en un codón UAG, que normalmente puede ser un codón de parada. Algunos aminoácidos no convencionales que no están codificados genéticamente pueden ser resultado de la modificación de aminoácidos convencionales ya incorporados en un péptido o pueden ser intermedios o precursores metabólicos, por ejemplo. Los ejemplos de aminoácidos no convencionales incluyen 4-hidroxiprolina, 5-hidroxilisina, 6-N-metil-lisina, gamma-carboxiglutamato, desmosina, selenocisteína, ornitina, citrulina, lantionina, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico, ácido gamma-aminobutírico, carnitina, sarcosina o N-formilmietionina. También se conocen variantes sintéticas de aminoácidos convencionales y no convencionales y pueden incluir aminoácidos derivatizados químicamente, aminoácidos marcados para su identificación o seguimiento o aminoácidos con una diversidad de grupos laterales en el carbono alfa. Se conocen en la técnica ejemplos de dichos grupos laterales y pueden incluir cadenas laterales alifáticas, aromáticas únicas, aromáticas policíclicas, heterocíclicas, heteronucleares, amino, alquilamino, carboxilo, carboxamida, éster de carboxilo, guanidina, amidina, hidroxilo, alcoxi, mercapto, alquilmerapto u otras cadenas laterales que contienen heteroátomos. Otros aminoácidos sintéticos pueden incluir alfa iminoácidos, aminoácidos no alfa tales como beta-aminoácidos, des-carboxi o des-aminoácidos. Pueden sintetizarse variantes sintéticas de aminoácidos usando métodos generales conocidos en la técnica o pueden adquirirse de proveedores comerciales, por ejemplo RSP Amino Acids LLC (Shirley, MA).

El término "anticuerpo" como se usa en el presente documento se refiere a proteínas del sistema inmunitario, también denominadas inmunoglobulinas, producidas en respuesta a sustancias extrañas (antígenos). Los anticuerpos normalmente contienen dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, que están unidas. La variabilidad en la estructura de estas cadenas proporciona especificidad de antígeno - es decir permite a los anticuerpos individuales que reconozcan antígenos específicos. El término anticuerpo puede incluir anticuerpos policlonales y monoclonales, quiméricos, de cadena única, o anticuerpos humanizados, así como fragmentos Fab o F(ab)2, incluyendo los productos de un Fab u otra biblioteca de expresión de inmunoglobulinas. Se conocen en la materia métodos de fabricación de dichos anticuerpos o fragmentos y pueden encontrarse, por ejemplo, en HARLOW, E y LANE D. *Antibodies: A Laboratory Manual*. 1988. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Los anticuerpos de acuerdo con algunas realizaciones de la invención también pueden ser anticuerpos intracelulares, denominados a veces 'intracuerpos'. Se han descrito en la técnica métodos para el diseño, la fabricación y/o el uso de dichos anticuerpos, por ejemplo (Lecerf et al. 2001; Hudson y Souriau 2003). Se ha indicado que el uso de anticuerpos intracelulares es una posible estrategia para la dirección terapéutica de enfermedades de plegamiento erróneo de proteínas (Cardinale y Biocca, 2008). La selección o identificación de péptidos específicos para su uso como epítopos para la producción de anticuerpos que diferencian entre proteínas o isoformas de proteínas puede hacerse usando comparaciones de secuencias - un experto en la materia será capaz de identificar secuencias de péptidos o proteínas adecuadas que puedan ser útiles para la producción de anticuerpos con las selectividades deseadas. Los anticuerpos policlonales son anticuerpos que derivan de diferentes estirpes de células B. Son una mezcla de moléculas de inmunoglobulina secretadas contra un antígeno específico, reconociendo cada uno un epítipo diferente. Estos anticuerpos normalmente se producen por inmunización de un mamífero adecuado, tal como un ratón, conejo o cabra. Con frecuencia se prefieren mamíferos más grandes ya la cantidad de suero que puede recogerse es mayor. Se inyecta un antígeno en el mamífero. Esto induce que los linfocitos B produzcan inmunoglobulinas IgG específicas para el antígeno. Esta IgG se purifica a partir del suero del mamífero. Por el contrario, los anticuerpos monoclonales derivan de una única estirpe celular. Pueden usarse adyuvantes para mejorar o potenciar una respuesta inmunitaria a antígenos. En ciertas realizaciones de la presente invención, se proporcionan anticuerpos o intracuerpos generados contra o que se unen a los péptidos de la presente invención. También se proporcionan métodos de uso de dichos anticuerpos o intracuerpos.

Los anticuerpos monoclonales referenciados en el presente documento incluyen específicamente anticuerpos

"quiméricos" en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la cadena o cadenas es idéntico u homólogo a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otras especies o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpo, así como fragmentos de dichos anticuerpos, a condición de que presenten la actividad biológica deseada (Patente de los EE.UU. N.º 4.816.567). Los anticuerpos quiméricos de interés en el presente documento incluyen anticuerpos "primatizados" que comprenden secuencias de unión a antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano (por ejemplo, mono o simio del viejo mundo) y secuencias de región constante humanas.

La "citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos" (CCDA) se refiere a una reacción mediada por células en la que células citotóxicas no específicas que expresan receptores de Fc (FcR) (por ejemplo, linfocitos citolíticos naturales (NK), neutrófilos y macrófagos) reconocen un anticuerpo unido sobre una célula diana y posteriormente provocan la lisis de la célula diana. Las células principales para mediar la CCDA, los linfocitos NK, expresan Fc γ RIII solamente, mientras que los monocitos expresan Fc γ RI, Fc γ RII y Fc γ RIII. Para evaluar la actividad CCDA de una molécula de interés, puede realizarse un ensayo de CCDA in vitro (Patente de los EE.UU. N.º 5.003.621; Patente de los EE.UU. N.º 5.821.337). Las células efectoras útiles para dichos ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBM) y linfocitos citolíticos naturales (NK). Como alternativa o adicionalmente, la actividad de CCDA de la molécula de interés puede evaluarse in vivo, por ejemplo, en un modelo animal tal como el descrito en Clynes et al. *PNAS* (EE.UU.), 95: 652-656 (1998).

Un anticuerpo que "induce la muerte celular" es aquel que provoca que una célula viable se vuelva no viable. La muerte celular in vitro puede determinarse en ausencia de complemento y de células efectoras inmunitarias para distinguir la muerte celular inducida por la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (CCDA) o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Por tanto, el ensayo para la muerte celular puede realizarse usando suero inactivado por calor (es decir, en ausencia de complemento) y en ausencia de células efectoras inmunitarias. Para determinar si el anticuerpo es capaz de inducir la muerte celular, puede evaluarse la pérdida de integridad de la membrana evaluada mediante la captación de yoduro de propidio (IP), azul de tripano o 7AAD con respecto a las células sin tratar. Los anticuerpos que inducen la muerte celular son aquellos que inducen la captación de IP en el ensayo de captación de IP en células BT474.

Un anticuerpo que "induce la apoptosis" es aquel que induce la muerte celular programada como se determina mediante la unión de anexina V, la fragmentación de ADN, la contracción celular, la dilatación del retículo endoplasmático, la fragmentación celular y/o la formación de vesículas de membrana (denominadas cuerpos apoptóticos).

Los inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento pueden estar en forma aislada o pueden estar unidos a o en combinación con compuestos trazadores, liposomas, vehículos de hidratos de carbono, vehículos poliméricos u otros agentes o excipientes como será evidente para un experto en la materia. En una realización alternativa, dichos compuestos pueden comprender un medicamento, en el que dichos compuestos pueden estar presentes en una cantidad farmacológicamente eficaz.

El término "medicamento", como se usa en el presente documento, se refiere a una composición que puede administrarse a un paciente o sujeto de ensayo y es capaz de producir un efecto en el paciente o sujeto de ensayo. El efecto puede ser químico, biológico o físico y el paciente o sujeto de ensayo puede ser un ser humano o un animal no humano, tal como un roedor o un ratón transgénico o un perro, gato, vaca, oveja, caballo, hámster, cobaya, conejo o cerdo. El medicamento puede estar compuesto de la entidad química eficaz por sí sola o en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La expresión "excipiente farmacéuticamente aceptable" puede incluir cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos, antimicrobianos o antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción y similares que son compatibles fisiológicamente. Un excipiente puede ser adecuado para la administración intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, intratecal, tópica u oral. Un excipiente puede incluir soluciones acuosas estériles o dispersiones para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Se conoce en la técnica el uso de dichos medios para la preparación de medicamentos.

Pueden administrarse inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento en cualquiera de una diversidad de vías conocidas. Los ejemplos de métodos que pueden ser adecuados para la administración de inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento incluyen por vía oral, intravenosa, inhalación, intramuscular, subcutánea, tópica, intraperitoneal, supositorio intrarrectal o intravaginal, sublingual y similares. Los inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento pueden administrarse en forma de una solución acuosa estéril o pueden administrarse en un excipiente soluble en grasa, o en otro formato de solución, suspensión, parche, comprimido o pasta según sea apropiado. Una composición que comprende los inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento puede formularse para su administración por inhalación. Por ejemplo, puede combinarse un inhibidor de SEMA3C descrito en el presente documento con un excipiente para permitir la dispersión en un aerosol. Ejemplos de formulaciones de inhalación serán conocidos por los expertos en la materia. Pueden incluirse otros

agentes en combinación con los inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento para ayudar en la captación o el metabolismo, o la dispersión retardada dentro del huésped, tales como en una formulación de liberación controlada. Ejemplos de formulaciones de liberación controlada serán conocidos por los expertos en la materia y pueden incluir la microencapsulación, la embolización dentro de una matriz de hidrato de carbono o polimérica y similares. Se encuentran otros métodos conocidos en la técnica para fabricar formulaciones, por ejemplo, en "*Remington's Pharmaceutical Sciences*", (19a edición), ed. A. Gennaro, 1995, Mack Publishing Company, Easton, Pa.

La dosificación de los inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento pueden variar dependiendo de la vía de administración (oral, intravenosa, inhalación o similares) y la forma en la que la composición o el compuesto se administra (solución, liberación controlada o similar). La determinación de las dosis apropiadas está dentro de la capacidad de un experto en la materia. Como se usa en el presente documento, una "cantidad eficaz", una "cantidad terapéuticamente eficaz" o una "cantidad farmacológicamente eficaz" de un medicamento se refiere a una cantidad de un medicamento presente en una concentración de manera que da como resultado un nivel terapéutico del fármaco entregado durante el término en el que se usa el medicamento. Esto puede ser dependiente de la modalidad de la entrega, el período de tiempo de la dosificación, la edad, el peso, la salud general, el sexo y la dieta del sujeto que recibe el medicamento. Se conocen en la técnica métodos para determinar cantidades eficaces. Se entiende que podría ser potencialmente beneficioso restringir la entrega de los inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento al tejido o célula diana en los que se desea la inhibición de SEMA3C. Se entiende también que puede ser deseable dirigir los inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento a un tipo deseado de tejido o célula. Los inhibidores de SEMA3C descritos en el presente documento de la invención pueden acoplarse a un resto de captación celular. El resto de dirección también puede funcionar como resto de captación celular.

La entrega de moléculas bioactivas tales como péptidos, a una célula o células de una manera razonablemente eficiente puede requerir más que simplemente 'arrojar' el péptido desnudo sobre la célula, o la administración del péptido desnudo en el paciente o sujeto de ensayo. Se conocen en la técnica agentes que permiten la entrega de moléculas bioactivas en las células de una manera adecuada con el fin de proporcionar una cantidad eficaz, tal como una cantidad farmacológicamente eficaz, y se describen en, por ejemplo, DIETZ et al. 2004. *Mol Cell. Neurosci* 27: 85-131. Los ejemplos de dichos agentes incluyen liposomas, partículas lipídicas, anticuerpos o ligandos de receptores que pueden estar acoplados a la molécula bioactiva, vectores víricos y dominios de transducción de proteína (DTP). Los ejemplos de DTP incluyen el homeodominio de *Antennapedia* (PEREZ et al. 1992 *J. Cell Sci* 102: 717-722), transportano (POOGA et al. 1998 *FASEB J* 12: 67-77), los dominios de translocación de la toxina diftérica (STENMARK et al. 1991 *J Cell Biol* 113: 1025-1032; WIEDLOCHA et al. 1994 *Cell* 76: 1039-1051), toxina del ántrax (BALLRAD et al. 1998 *Infect. Immun.* 66: 615-619; BLANKE et al. 1996 *Proc Natl Acad Sci* 93: 8437-8442) y exotoxina A de *Pseudomonas* (PRIOR et al. 1992 *Biochemistry* 31: 3555-3559), derivados de protegrina, tales como dermaseptina S4 (HRAITON-GAZAL et al. 2002 *Biochemistry* 41: 9208-9214), VP22 de VHS-1 (DILBER et al. 1999 *Gene Ther.* 6: 12-21), PEP-1 (MORRIS et al. 2001 *Nature Biotechnol* 19: 1173-1176), péptidos básicos, tales como poli-L y poli-D-lisina (WOLFERT et al. 1996 *Gene Ther.* 3: 269-273; RYSER et al. 1980 *Cancer* 45: 1207-1211; SHEN et al. 1978 *Proc Natl Acad Sci* 75: 1872-1876), HSP70 (FUJIHARA et al. 1999 *EMBO J* 18: 411-419) y VIH-TAT (DEMACHI et al. 1996 *J Virol* 70: 4427-4437). Se describen otros ejemplos y detalles relacionados de dichos dominios de transducción de proteínas en DIETZ, citado anteriormente y las referencias en el mismo.

Como se usa en el presente documento, el término "cáncer" se refiere a un trastorno proliferativo provocado o caracterizado por la proliferación de células que han perdido la susceptibilidad al control del crecimiento normal. El término cáncer, como se usa en la presente solicitud, incluye los tumores y cualesquiera otros trastornos proliferativos, tales como el adenocarcinoma de próstata. Los cánceres del mismo tipo de tejido generalmente se originan en el mismo tejido y pueden dividirse en diferentes subtipos en función de sus características biológicas. Son cuatro categorías generales de cánceres: carcinoma (derivado de tejido epitelial), sarcoma (derivado de tejido conectivo o mesodérmico), leucemia (derivado de tejido formador de sangre) y linfoma (derivado de tejido linfático). Se conocen más de 200 tipos diferentes de cáncer y cada órgano y tejido del cuerpo puede verse afectado. Los ejemplos específicos de cánceres que no limitan la definición de cáncer pueden incluir melanoma, leucemia, astrocitoma, glioblastoma, retinoblastoma, linfoma, glioma, linfoma de Hodgkin y leucemia linfocíticas crónicas. Los ejemplos de órganos y tejidos que pueden verse afectados por diversos cánceres incluyen páncreas, mama, tiroides, ovario, útero, testículos, próstata, tiroides, hipófisis, glándula suprarrenal, riñón, estómago, esófago, colon o recto, cabeza y cuello, hueso, sistema nervioso, piel, sangre, tejido nasofaríngeo, pulmón, tracto urinario, cuello uterino, vagina, glándulas exocrinas y glándulas endocrinas. Como alternativa, un cáncer puede ser multicéntrico o de sitio primario desconocido (CSPD).

Como se usa en el presente documento, una "célula cancerosa" se refiere a una célula que ha experimentado una transformación y cuyo crecimiento ya no está regulado en la misma medida que antes de dicho evento de transformación. Un tumor se refiere a una colección de células cancerosas, que se encuentra con frecuencia como un bulto sólido o semisólido en o sobre el tejido o un paciente o sujeto de ensayo.

Un cáncer o célula cancerosa pueden describirse como "sensible" o "resistente" a un régimen terapéutica o agente quimioterápico dados basándose en la capacidad del régimen para destruir las células cancerosas o reducir el tamaño del tumor, reducir el crecimiento global del cáncer (es decir, a través de la reducción de la angiogénesis) y/o

inhibir la metástasis. Las células cancerosas que son resistentes a un régimen terapéutico pueden no responder al régimen y pueden continuar proliferando. Las células cancerosas que son sensibles a un régimen terapéutico pueden responder al régimen dando como resultado la muerte celular, una reducción del tamaño del tumor, un crecimiento global reducido (carga tumoral) o la inhibición de la metástasis. Por ejemplo, esto se manifiesta deseablemente en una reducción del tamaño tumoral, del crecimiento global/carga tumoral o de la incidencia de metástasis de aproximadamente el 10 % o más, por ejemplo, aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 40 %, aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 60 %, aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 80 % o más, a aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces, aproximadamente 4 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 10 veces, aproximadamente 15 veces, aproximadamente 20 veces o más. El control de una respuesta puede conseguirse mediante numerosos métodos patológicos, clínicos y de formación de imágenes como se describen en el presente documento y conocidos por los expertos en la materia.

Un tema común para un agente quimioterápico o combinación de agentes es inducir la muerte de las células cancerosas. Por ejemplo, aductos de ADN, tales como nitrosoureas, busulfán, tiotepa, clorambucilo, cisplatino, mitomicina, procarbazona o dacarbazina retardan el crecimiento de la célula cancerosa forzando a la célula replicante a reparar el ADN dañado antes de la fase M del ciclo celular, o pueden por sí mismos provocar un daño suficiente como para desencadenar la apoptosis de la célula cancerosa. Otros acontecimientos tales como la expresión o la transcripción génica, la traducción de la proteína o la metilación del ADN replicado, por ejemplo, también pueden ser interferidos por el variado arsenal de agentes quimioterápicos disponibles para el médico, y ayudan a desencadenar procesos de apoptosis dentro de las células cancerosas. Como alternativa, un agente quimioterápico puede permitir que la célula cancerosa sea destruida por aspectos del sistema inmunitario humoral o adquirido del paciente o el sujeto de ensayo, por ejemplo, la cascada del complemento o el ataque por linfocitos.

Como se usa en el presente documento, un "régimen terapéutico" o "terapia" se refiere a la administración de al menos un agente que es perjudicial para las células cancerosas. Los regímenes terapéuticos adecuados para su uso de acuerdo con la invención incluyen, pero no se limitan a, "regímenes quimioterápicos", "regímenes radioterápicos", "régimen terapéutico alternativo" y combinaciones los mismos.

Como se usa en el presente documento, un "régimen quimioterápico" o "quimioterapia" se refiere a la administración de al menos un agente de quimioterapia que es dañino para destruir las células cancerosas. Existe una gran variedad de dichos agentes de quimioterapia a disposición de un médico. Los agentes de quimioterapia pueden administrarse a un sujeto en una dosis única en bolo o pueden administrarse en dosis más pequeñas con el tiempo. Puede usarse un agente quimioterápico único (terapia de agente único) o puede usarse más de un agente en combinación (terapia de combinación). La quimioterapia puede usarse por sí sola para el tratamiento de algunos tipos de cáncer. Como alternativa, la quimioterapia puede utilizarse en combinación con otros tipos de tratamiento, por ejemplo, la radioterapia o terapias alternativas (por ejemplo inmunoterapia) como se describen en el presente documento. Además, puede administrarse un quimiosensibilizador como una terapia de combinación con un agente de quimioterapia.

Como se usa en el presente documento, un "agente quimioterápico" se refiere a un medicamento que puede usarse para tratar el cáncer y generalmente tiene la capacidad de destruir directamente las células cancerosas. Los ejemplos de agentes quimioterápicos incluyen agentes alquilantes, antimetabolitos, productos naturales, hormonas y antagonistas y agentes misceláneos. Los ejemplos de nombres alternativos se indican entre paréntesis. Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen las mostazas nitrogenadas tales como mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán (L-sarcolisina) y clorambucilo; etileniminas y metilmelaminas tales como hexametilmelamina y tiotepa; sulfonatos de alquilo tales como busulfán; nitrosoureas tales como carmustina (BCNU), semustina (metil-CCNU), lomustina (CCNU) y estreptozocina (estreptozotocina); antagonistas de la síntesis de ADN tales como el fosfato de estramustina; y triazinas tales como dacarbazina (DTIC, dimetil-triazenoimidazolcarboxamida) y temozolomida. Los ejemplos de antimetabolitos incluyen análogos de ácido fólico tales como el metotrexato (ametopterina); análogos de pirimidina tales como fluorouracina (5-fluorouracilo, 5-FU, 5-FU), floxuridina (fluorodesoxiuridina, FUDR), citarabina (arabinósido de citosina) y gemcitabina; análogos de purina tales como mercaptopurina (6-mercaptopurina, 6-MP), tioguanina (6-tioguanina, TG) y pentostatina (2'-desoxicoformicina, desoxicoformicina), cladribina y fludarabina; e inhibidores de la topoisomerasa tales como amsacrina. Los ejemplos de productos naturales incluyen alcaloides de la vinca tales como vinblastina (VLB) y vincristina; taxanos tales como paclitaxel y docetaxel (Taxotere); epipodofilotoxinas tales como etopósido y tenipósido; camptotecinas tales como topotecán e irinotecán; antibióticos tales como dactinomicina (actinomicina D), daunorrubicina (daunomicina, rubidomicina), doxorubicina, bleomicina, mitomicina (mitomicina C), idarrubicina, epirubicina; enzimas tales como L-asparaginasa; y modificadores de respuesta biológica tales como interferón alfa e interleucina 2. Los ejemplos de hormonas y antagonistas incluyen los agonistas de la hormona liberadora luteinizante, tales como buserelina; adrenocorticoesteroides tales como prednisona y preparaciones relacionadas; progestinas tales como caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroxiprogesterona y acetato de megestrol; estrógenos tales como dietilestilbestrol y etinilestradiol y preparaciones relacionadas; antagonistas de estrógenos tales como tamoxifeno y anastrozol; andrógenos tales como propionato de testosterona y fluoximesterona y preparaciones relacionadas; antagonistas de andrógenos tales como flutamida y bicalutamida; y análogos de hormona liberadora de gonadotropina tales como leuprolida. Los ejemplos de agentes misceláneos incluyen talidomida; complejos de coordinación de platino tales como el cisplatino (*cis*-DDP), oxaliplatino y carboplatino; antracenodionas tales como mitoxantrona; ureas sustituidas

tales como hidroxiquina; derivados de metilhidrazina tales como procarbazona (N-metilhidrazina, MH); supresores adrenocorticales tales como mitotano (o,p'-DDD) y aminoglutarimida; agonistas de RXR tales como bexaroteno; e inhibidores de la tirosina cinasa tales como imatinib. Los nombres alternativos y nombres comerciales de estos y ejemplos adicionales de agentes quimioterápicos y sus métodos de uso incluyendo la dosificación y regímenes de administración, serán conocidos por un experto en la materia y pueden encontrarse, por ejemplo, en *"The Pharmacological basis of therapeutics"*, 10ª edición. HRADMAN HG., Limbird LE. editores. McGraw-Hill, Nueva York y en *"Clinical Oncology"*, 3ª edición. Churchill Livingstone/Elsevier Press, 2004. Abeloff, MD. editor. En particular, los agentes quimioterápicos adecuados para uso de acuerdo con la invención incluyen, sin limitación, paclitaxel unido a nanopartícula de albúmina.

Como se usa en el presente documento, la expresión "régimen radioterapéutico" o "radioterapia" se refiere a la administración de radiación para destruir células cancerosas. La radiación interactúa con diversas moléculas dentro de la célula, pero la diana principal, que da como resultado la muerte celular es el ácido desoxirribonucleico (ADN). Sin embargo, la radioterapia con frecuencia también da como resultado daños en las membranas celulares y nucleares y otros orgánulos. El daño del ADN por lo general implica roturas de la cadena simple y de la cadena doble en la estructura principal de fosfato de azúcar. Además, puede haber entrecruzamiento del ADN y las proteínas, lo que puede alterar la función celular. Dependiendo del tipo de radiación, el mecanismo de daño del ADN puede variar al igual que lo hace la eficacia biológica relativa. Por ejemplo, las partículas pesadas (es decir, protones, neutrones) dañan directamente el ADN y tienen una mayor eficacia biológica relativa. La radiación electromagnética da como resultado la ionización indirecta que actúa a través de radicales libres de hidroxilo de vida corta, producidos principalmente por la ionización del agua celular. Las aplicaciones clínicas de radiación consisten en la radiación de haz externo (de una fuente externa) y la braquiterapia (usando una fuente de radiación implantada o insertada en el paciente). La radiación de haz externo consiste en rayos X y/o rayos gamma, mientras que la braquiterapia emplea núcleos radiactivos que se descomponen y emiten partículas alfa, partículas beta o junto con un rayo gamma.

La radioterapia puede usarse adicionalmente en la quimioterapia de combinación, actuando el agente quimioterápico como un radiosensibilizador. La elección específica de la radioterapia adecuada para un paciente individual puede ser determinada por una persona experta en el punto de atención, teniendo en cuenta el tejido y el estado del cáncer. Pueden encontrarse ejemplos enfoques de radioterapia para diversos cánceres, por ejemplo, en *"Clinical Oncology"*, tercera edición. Churchill Livingstone/Elsevier Press, 2004. Abeloff, MD. editor.

Como se usa en el presente documento, la expresión "régimen terapéutico alternativo" o "terapia alternativa" puede incluir, por ejemplo, modificadores de la respuesta biológica (incluyendo modificadores de la respuesta biológica polipeptídicos, de hidratos de carbono y lipídicos), toxinas, lectinas, agentes antiangiogénicos, inhibidores de tirosina cinasa receptora (por ejemplo Iressa™ (gefitinib), Tarceva™ (erlotinib), Erbitux™ (cetuximab), mesilato de imatinib (Gleevec™), inhibidores del proteosoma (por ejemplo bortezomib, Velcade™); inhibidores de VEGFR2 tales como PTK787 (ZK222584), inhibidores de la cinasa aurora (por ejemplo ZM447439); diana mamífera de inhibidores de rapamicina (mTOR), inhibidores de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), inhibidores de la rapamicina (por ejemplo sirolimus, Rapamune™); inhibidores de la farnesiltransferasa (por ejemplo tipifarnib, Zarnestra); inhibidores de metaloproteinasas de matriz (por ejemplo BAY 12-9566; polisacárido de tecogalano sulfatado); inhibidores de la angiogénesis (por ejemplo Avastin™ (bevacizumab); análogos de fumagilina tales como TNP-4; carboxiaminotriazol; BB-94 y BB-2516; talidomida; interleucina-12; linomida; fragmentos peptídicos; y anticuerpos frente a receptores de factores de crecimiento vasculares y factor de crecimiento vascular); inhibidores del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas, inhibidores de la proteína cinasa C, inhibidores de cinasas activadas por mitógeno, inhibidores de proteína cinasas activadas por mitógeno, inhibidores del oncogén transformante del virus del sarcoma de Rous (SRC), inhibidores de la histona desacetilasa, inhibidores de factores pequeños inducibles por hipoxia, inhibidores de hedgehog e inhibidores de la señalización de TGF-β. Además, un agente inmunoterápico también sería considerado un régimen terapéutico alternativo. Los ejemplos incluyen quimiocinas, quimiotaxinas, citocinas, interleucinas o factor tisular. Los agentes inmunoterápicos adecuados también incluyen suero o anticuerpos preformados que contienen gamma globulina; adyuvantes inmunoestimulantes no específicos; inmunoterapia específica activa e inmunoterapia adoptiva. Además, las terapias alternativas pueden incluir otras entidades químicas basadas en productos biológicos tales como polinucleótidos, incluyendo moléculas antisentidos, polipéptidos, anticuerpos, vectores de terapia génica y similares. Dichos agentes terapéuticos alternativos pueden administrarse por sí solos o en combinación, o en combinación con otros regímenes terapéuticos descritos en el presente documento. Los nombres alternativos y nombres comerciales de estos agentes utilizados en regímenes terapéuticos alternativos y ejemplos adicionales de agentes utilizados en regímenes terapéuticos alternativos y sus métodos de uso, incluyendo la dosificación y los regímenes de administración, serán conocidos por un médico versado en la técnica. Además, los métodos de uso de agentes quimioterápicos y otros agentes utilizados en regímenes terapéuticos alternativos en terapias de combinación, incluyendo la dosificación y los regímenes de administración, también serán conocidos por un experto en la materia.

Cáncer de próstata

La acción androgénica y el estado funcional del RA son mediadores importantes de la progresión del cáncer de próstata. La alta expresión de RA se correlaciona con una menor supervivencia sin reaparición y con la progresión

de la enfermedad (Heinlein y Chang 2004). La actividad del RA es un mediador importante del crecimiento y la supervivencia del cáncer de próstata. Las células del cáncer de próstata dependientes e independientes de andrógenos responden de manera diferente a la regulación positiva de la SEMA3C (Herman y Meadows 2007).

- 5 Se entenderá que cualquier término no directamente definido en el presente documento tiene los significados asociados habitualmente a ellos como se entienden en la técnica de la invención. A continuación se analizan ciertos términos, o en otra parte de la memoria descriptiva, para proporcionar orientación adicional al médico especialista en la descripción de las composiciones, dispositivos, métodos y similares de las realizaciones de la invención, y cómo hacer uso de los mismos. Se apreciará que puede decirse lo mismo en más de una forma. En consecuencia, pueden usarse un lenguaje alternativo y sinónimos para uno cualquiera o más de los términos analizados en el presente documento.

- 15 Otros aspectos y características de la presente invención resultarán evidentes para los expertos en la materia tras la revisión de la siguiente descripción de realizaciones específicas de la invención en conjunto con las figuras adjuntas. La invención se describe adicionalmente en el presente documento con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes. Una descripción de los procedimientos experimentales empleados sigue a los ejemplos.

SEMA3C en el cáncer de próstata

- 20 La presente divulgación proporciona un apoyo significativo para el uso de inhibidores de SEMA3C para el tratamiento del cáncer de próstata. Se muestra en el presente documento, que el aumento de los niveles de ARNm de SEMA3C y de proteína secretada se asocian a células de cáncer de próstata sensibles a andrógenos y refractarias a hormonas, que SEMA3C se regula positivamente tras la retirada de andrógenos de las células de cáncer de próstata y que SEMA3C tiene mayores niveles de expresión en muestras de tejido de cánceres de próstata más avanzados. Adicionalmente, se muestra en el presente documento, que ciertos compuestos de ARN de interferencia dirigidos a SEMA3C son capaces de inhibir la expresión de SEMA3C, y que dicha inhibición provoca la inhibición del crecimiento celular y la inducción de apoptosis en células de cáncer de próstata, y que dicha inhibición del crecimiento celular se produce en una manera dependiente de SEMA3C. Además, se muestra en el presente documento que SEMA3C es un factor de crecimiento para células de cáncer de próstata. Se demuestra en el presente documento que el tratamiento de ratones con xenoinjerto de cáncer de próstata con oligonucleótidos antisentidos de SEMA3C redujo significativamente el volumen tumoral y el umbral de PSA. También se muestra en el presente documento que los péptidos interfieren con la interacción de SEMA3C con sus receptores de proteína afines u otros compañeros de unión. El tratamiento de células de cáncer de próstata con dichos péptidos redujo el crecimiento de las células de cáncer de próstata.

- 35 En consecuencia, la presente solicitud proporciona composiciones y métodos novedosos para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que sería deseable reducir la expresión o actividad de SEMA3C (por ejemplo, el cáncer de próstata). El cáncer de próstata puede haber escapado a la cápsula prostática, por ejemplo, el cáncer de próstata avanzado, o puede ser cáncer de próstata avanzado local. El inhibidor de SEMA3C puede ser un compuesto de interferencia de ARN o ADN. El inhibidor de SEMA3C puede ser un compuesto de interferencia de ARN que tenga una secuencia sustancialmente similar a la SEQ ID NO: 2. El inhibidor de SEMA3C puede ser un péptido. El inhibidor de SEMA3C puede ser un péptido que tenga una composición de aminoácidos sustancialmente similar a la SEQ ID NO: 3 o un fragmento de la misma. El inhibidor de SEMA3C puede ser un anticuerpo o un intracuerpo que se unan a un péptido que tenga una composición de aminoácidos sustancialmente similar a la SEQ ID NO: 1 o 3 o fragmentos de las mismas. Como alternativa, el inhibidor de SEMA3C puede ser una molécula pequeña, tal como Zinc00163599 (2-bromo-N-(2-metoxifenil)propanamida).

- 50 En otra realización de la invención, se proporciona una composición de polinucleótidos que comprende una secuencia de ácidos nucleicos sustancialmente similar a la SEQ ID NO: 2. En otra realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una composición de polinucleótidos con una composición de ácidos nucleicos sustancialmente similar a la SEQ ID NO: 2.

Ejemplos

- 55 Los siguientes ejemplos de trabajo se proporcionan con fines ilustrativos y no tienen por objeto ser limitantes, como tales.

EJEMPLO 1: La SEMA3C se regula positivamente tras la progresión del CPRC

- 60 Los presentes inventores han examinado los niveles de ARNm de SEMA3C y los niveles de proteína secretada en las células HBP-1 de la hiperplasia prostática benigna, las células LNCaP sensibles a andrógenos, las células C4-2 que es una subestirpe resistente a la castración derivada de linaje de LNCaP y células DU145 independientes de andrógeno y descubrieron que las células DU145 independientes de andrógenos y las células C4-2 refractarias a hormona expresaron niveles de hecho de 6 a 8 veces superiores de SEMA3C que las células LNCaP sensible a andrógenos y las células de BPH-1 no malignas (Figura 1) apoyando la idea de que el aumento de la expresión de SEMA3C se asocia a la progresión del CPRC.

EJEMPLO 2: La SEMA3C se regula positivamente tras la inducción de estrés mediante la retirada de andrógenos

Como se ha mencionado anteriormente, se ha identificado SEMA3C como un gen regulado por clusterina que se regula positivamente de una manera dependiente de NFkB en las células LNCaP (Figura 2). Para examinar si SEMA3C se induce después de la retirada de andrógenos, se evaluaron los niveles de proteína SEMA3C secretada en células LNCaP cultivadas en condiciones de empobrecimiento de andrógenos. Como se muestra en la Figura 3, los niveles de SEMA3C secretada por las células LNCaP aumentó de una manera dependiente del tiempo cuando se cultivaron en suero tratado con carbón vegetal (CSS) al 10 % con agotamiento de andrógenos.

EJEMPLO 3: La expresión alta de SEMA3C se asocia a la progresión del CPRC

A continuación, para determinar si SEMA3C también se regula positivamente después de la ablación de andrógenos en muestras clínicas, se realizó una inmunotinción en una micromatriz de tejido de terapia hormonal neo-adyuvante (THN) que representa 232 muestras de CaP humano de cánceres nunca tratados con hormonas y después del tratamiento con hormonas, agrupados en <3 meses, 3-6 meses, >6 meses y CPRC. Como se muestra en la Figura 4, SEMA3C se regula positivamente significativamente en muestras de CaP recogidas de hombres después de >6 meses después de la THN y en especímenes con CPRC, lo que confirma que la SEMA3C alta se asocia a la progresión del CPRC.

EJEMPLO 4: Generación y caracterización de ONC dirigidos a SEMA3C

Para caracterizar el papel funcional de SEMA3C, se diseñó un ONC contra las posiciones de nucleótidos 1-20 de la secuencia de codificación de SEMA3C (SEQ ID NO: 2). A partir del análisis de la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (qPCR), se descubrió que este ONC dirigido a SEMA3C inhibe eficazmente la expresión de SEMA3C en las células LNCaP, C4-2 y DU145 (Figura 5). Además, el ARNm de SEMA3C y la proteína secretada se inhibieron de una manera dependiente de la dosis de ONC en células C4-2 (Figura 5).

EJEMPLO 5: El ONC de SEMA3C inhibe el crecimiento celular e induce la apoptosis de las células de CaP en una manera específica de secuencia

El tratamiento con ONC inhibió el crecimiento (Figura 6) e indujo la apoptosis según se controló mediante el análisis de contenido de ADN sub G0/G1 (Figura 7A) de células LNCaP C4-2 y DU145 de una manera dependiente de la dosis. La apoptosis inducida por ONC de SEMA3C se asoció a un aumento de la escisión de PARP y una disminución en los niveles de pro-caspasa 3 y pro-caspasa 8 y pro-caspasa 9 en las células DU145 (Figura 7B).

EJEMPLO 6: El ONC de SEMA3C inhibe el crecimiento celular del CaP en una forma dependiente de SEMA3C

La cuestión de la especificidad de la diana y los efectos fuera de la diana son una consideración importante en el uso de ONC en genómica funcional. La forma mejor y más robusta para el control de la especificidad de ONC es rescatar el fenotipo inducido por ONC a través de la reconstitución genética o de proteínas de la diana. Con este fin, se transdujeron células LNCaP con un lentivirus que expresaba SEMA3C o vector vacío como control y se preparó medio acondicionado. El medio acondicionado de células que expresan SEMA3C (MA de SEMA3C), pero no el medio acondicionado de células transducidas con vectores vacíos (MA simulado), fue capaz de rescatar la inhibición del crecimiento celular de las células DU145 inducido por el tratamiento con ONC que confirma la especificidad de diana del ONC de SEMA3C (Figura 8).

EJEMPLO 7: SEMA3C es un factor de crecimiento para células de CaP

Para determinar si SEMA3C es un factor estimulante del crecimiento auténtico, se trataron células DU145 con MA de SEMA3C frente a MA simulado y el crecimiento celular se controló por recuento directo de células de las células viables (Figura 9E). Coherente con esta noción, la sobreexpresión de SEMA3C aceleró el crecimiento celular de LNCaP los que se correlaciona con el aumento de la proporción de células en fase S (Figura 9).

EJEMPLO 8: El tratamiento con ONC de SEMA3C previene la progresión de LNCaP después de la castración en vivo

Se castraron veinte ratones desnudos atímicos machos que llevaban tumores de xenoinjerto de LNCaP en un umbral de PSA de 75 ng/ml y se seleccionaron al azar para el tratamiento con ONC de SEMA3C frente a control revuelto. El volumen tumoral y el PSA medios fueron similares en ambos grupos al inicio del tratamiento. A partir del Día 1 después de la castración, se administraron 12,5 mg/kg de ONC cada dos días mediante inyección intraperitoneal (ip) durante 6 semanas y el volumen tumoral y los niveles séricos de PSA se controlaron una vez por semana. Como se muestra en la Figura 10, tras la castración, el volumen tumoral y los niveles séricos de PSA de LNCaP disminuyeron y permanecieron bajos durante todo el curso temporal del experimento en ratones tratados con ONC de SEMA3C, en comparación con los tratados con controles revueltos que presentaban una progresión gradual al CPRC. Todos los ratones tratados con castración más ONC de SEMA3C tuvieron una inhibición significativa del crecimiento tumoral de CPRC durante las 6 semanas de análisis. No se observaron efectos secundarios con

tratamiento con ONC de SEMA3C o con control revuelto.

EJEMPLO 9: El péptido truncado de SEMA3C es un inhibidor potente del crecimiento de las células LNCaP

5 Se cultivaron células LNCaP en presencia de medio acondicionado a partir de células HEK-293T transducidas lentivíricamente estables que expresaban SEMA3C de longitud completa (LC), SEMA3C truncada (DSH) o vector vacío y la proliferación de células LNCaP se controló mediante la incorporación de 3H-timidina. Las células LNCaP cultivadas en presencia de SEMA3C truncada (DSH) mostraron un crecimiento significativamente menor que las células cultivadas en presencia de SEMA3C de longitud completa (LC) o ninguna SEMA3C (vector vacío) (Figura 11). La SEMA3C truncada utilizada en este experimento comprendía un dominio SEMA de SEMA3C y correspondió a la SEQ ID NO: 3.

EJEMPLO 10: La SEMA3C de longitud completa y la SEMA3C truncada influyen en la eficiencia del cultivo en placas de células LNCaP

15 La sobreexpresión de semaforina 3C de longitud completa potencia la eficiencia del cultivo en placas y el crecimiento de las células LNCaP en agar blando, al contrario que la expresión del dominio sema solo, que suprime la formación de colonias en agar blando (figura 12). El crecimiento en agar blando se usa para medir la proliferación celular independiente de anclaje potencial y es uno de los ensayos más importantes y más habitualmente usado para detectar la transformación celular y en el presente documento demuestra que el dominio sema puede actuar como un inhibidor de la proliferación celular independiente de anclaje.

EJEMPLO 11: La unión competitiva de proteína de fusión SEMA3C fosfatasa alcalina muestra el desplazamiento por Sema3C de longitud completa, dominio Sema y un anticuerpo monoclonal anti-Sema3C de ratón en células DU145

25 Se fusionó Semaforina 3C en fase con la fosfatasa alcalina secretada placentaria humana, y la proteína de fusión resultante de AP denominada APSema3C después se usó para controlar la unión al receptor de superficie celular mediante un ensayo de actividad de fosfatasa alcalina (Figura 13). La unión específica de la proteína de fusión APSema3C a las células DU145 puede separarse por competencia mediante la adición de cualquiera de proteína de fusión dominio Sema:Fc, Sema3C de longitud completa o un anticuerpo monoclonal anti-Sema3C de ratón, pero no se separó por competencia por anti-IgG2b de ratón de rata (control).

Generación de proteína de fusión semaforina 3C de longitud completa fosfatasa alcalina.

35 Se amplificó por PCR Semaforina 3C de longitud completa incluyendo su péptido señal nativo usando ADNc de Semaforina3C NM_006379 (clon de ADNc Origene SC116160, Origene, Rockville, MD) como plantilla para la PCR. Se usaron cebadores de 5' y 3' específicos de Semaforina 3C que contenían sitios de restricción NheI y BglII para la amplificación por PCR. El producto de PCR resultante se clonó en fase con la secuencia de codificación de la fosfatasa alcalina mediante ligadura en los sitios NheI/BglII del vector pAptag-5 (GenHunter Corporation, Nashville, TN). La construcción final se confirmó mediante análisis de secuencia de ADN. La expresión de la proteína de fusión Semaforina 3C AP se confirmó mediante transferencia Western de lisados de células enteras y medio acondicionado usando anticuerpo anti-Semaforina 3C (N-20) o monoclonal anticuerpo anti-His THETM (Genescript Corp. NJ).

La proteína de fusión fosfatasa alcalina:semaforina 3C muestra una unión específica a células DU145.

45 Se desarrolló un ensayo de unión en células DU145 esencialmente como se ha descrito previamente por Flanagan et al. 1990. El día antes del ensayo de unión, las células DU145 (20.000/pocillo) se sembraron en medio de crecimiento (DMEM que contenía FBS al 10 %) en placas de cultivo tisular de 96 pocillos. El medio acondicionado se recogió de células 293T que expresaban Semaforina 3C-AP 48 horas después de alcanzar la subconfluencia. El medio acondicionado se diluyó en serie dos veces en tampón de unión HBHA (HEPES 20 mM, NaCl 150 mM, azida al 0,1 %, BSA 5 g/l, CaCl₂ 5 mM, MgCl₂ 1 mM). Después, el medio de crecimiento se retiró y las células se lavaron una vez con tampón HBHA y se reemplazó por el MA Semaforina-AP diluido en serie. Las células se incubaron durante 90 minutos a TA. Las placas se lavaron con HBHA siete veces durante un periodo de 10 minutos. Las células se fijaron con (acetona al 60 %, formaldehído al 3 %) durante 30 minutos en hielo. La fosfatasa alcalina celular se inactivó mediante flotación las placas en un baño de agua a 65 °C durante 20 minutos. Después, las células se lavaron otras tres veces con HBHA antes de la detección de la actividad de AP usando NBT/BCIP compuesto en tampón de AP (Tris 100 mM pH 9,5, NaCl 100 mM, MgCl₂ 5 mM). Las placas se incubaron en la oscuridad durante la noche y después se leyeron a densidad óptica (550-562 nm) en un lector de placas.

60 Generación de proteína de fusión Semaforina 3C dominio Sema. El dominio Sema que contenía su péptido señal nativo (aminoácidos (1-495) de semaforina 3C (NM_006379, clon Origene SC116160, Origene, Rockville, MD)) se amplificó por PCR usando cebadores de 5' y 3' específicos de Semaforina 3C que contenían sitios de restricción AgeI y BglII para la clonación. Por tanto, el dominio Sema se fusionó en fase a Fc diseñado por ingeniería genética de IgG1 humana mediante ligadura de ADN específica de sitio de restricción en pFUSE-IgG1e1-Fc1 (Invivogen, San Diego, CA). La construcción de ADNc final se confirmó mediante la secuenciación del ADN. Después, la

construcción de fusión final se transfectó en células HEK 293T y los clones de expresión estable se seleccionaron mediante la selección de antibióticos en zeocina (10 µg/ml) (Invitrogen, Mississauga, On). La expresión de la proteína de fusión dominio Sema:Fc (DS:Fc) se detectó mediante transferencia Western usando anti-hlgG: placas de 96 pocillos. Se exploró el medio acondicionado de aproximadamente 1000 clones mediante ELISA indirecta usando anticuerpos monoclonales específicos de Fc anti-IgG1 humana (clon GG7, 5 µg/ml) como captura, (Sigma, San Luis, MO) y peroxidasa (específica de Fc) anti-IgG humana de cabra (1:30.000, Sigma, San Luis, MO) como anticuerpo secundario. La detección se realizó usando tetrametil bencidina (TMB). Las placas se incubaron en la oscuridad durante 60 minutos y después se leyeron en un lector de placas a 450 nm. Se identificó un clon que secretaba un alto nivel de proteína de fusión dominio Sema:Fc y se usó para todos los experimentos posteriores. La proteína de fusión dominio Sema:Fc se purificó adicionalmente a partir del medio acondicionado mediante cromatografía de afinidad de Proteína A/G y después se concentró 70 veces en filtros de ultra centrifuga Amicon de 10.000 de punto de corte de peso molecular.

EJEMPLO 12: Señales de SEMA3C a través de los receptores de proteína tirosina cinasa MET y RON en células DU145 y PC3 y a través de EGFR en células LNCaP.

El tratamiento de células con SEMA3C conduce a la activación de los receptores de tirosina cinasa MET y RON en células DU145 y PC3 y el tratamiento con SEMA3C de células LNCaP conduce a la activación del EGFR (Figura 14). La semaforinas se unen y activan los receptores plexina y las plexinas han demostrado que interactúan con MET y EGFR a través de su dominio extracelular. Además, el tratamiento de las células con la proteína de fusión DA:Fc puede bloquear la fosforilación inducida por SEMA3C de MET (Figura 15).

Se purificó Semaforina 3C marcada con His de longitud completa usando cromatografía de afinidad en columna de níquel convencional. La proteína Semaforina3C resultante purificada se concentró adicionalmente y se reconstituyó al volumen original con PBS.

Curso temporal de las células DU145 y PC3 estimuladas con Semaforina 3C. Se sembraron densidades celulares equivalentes de cualquiera de las células DU145 o PC3 en placas de 6 pocillos 24 horas antes de la estimulación con Semaforina 3C. Para las estimulaciones las células se lavaron primero con PBS y se reconstituyeron con o sin MA de Semaforina 3C diluido 1:10 en PBS que contenía HEPES 20 mM. Las células se estimularon en un curso temporal de más de 30 minutos. En el punto temporal indicado se lavaron las células con PBS enfriado con hielo e inmediatamente se lisaron con tampón RIPA que contenía inhibidores de la proteasa completos suplementado con vanadato de Na 1 mM y molibdato de Na 1 mM. Las células lisadas se recogieron de las placas mediante raspado y se transfieren a microtubos. Los lisados de células enteras (LCE) se centrifugaron para retirar los restos celulares. Las proteínas de LCE (20 µg) se separaron mediante SDS al 8 %-PAGE y se analizaron adicionalmente mediante transferencia Western para determinar los cambios en la fosforilación de la oncoproteína MET.

Inmunoprecipitación

Se sembró una densidad equivalente de células DU145 o LNCaP en medio de crecimiento en placas de cultivo tisular de 10 cm. Veinticuatro horas más tarde el medio se reemplazó por medio sin suero durante 60 horas antes de la estimulación. Las células se trataron simuladamente o se estimularon con Semaforina 3C diluida 1:10 en PBS que contenía HEPES 20 mM a 37 °C en CO₂ al 5 %. Después de 10 minutos las células se lisaron en tampón RIPA suplementado con vanadato de Na 1 mM y molibdato de Na 1 mM. Los lisados celulares se recogieron de las placas mediante raspado y se centrifugaron para retirar los restos celulares. Después, el lisado de células enteras se preaclará con 30 µl de perlas de proteína A agarosa durante 30 min. Un lisado celular (1000 µg) en un volumen de 500 µl se inmunoprecipitó con anti-fosfotirosina 1,0 µg/ml (clon 4G10, Upstate, Temecula CA), anti-MET (C-28) o anti-RON (Santa Cruz, LaJolla CA) para las células DU145. Las células LNCaP se inmunoprecipitaron de forma similar con el anticuerpo anti-EGFR (528, 2,0 µg/ml), (Santa Cruz Biotechnology, Inc., LaJolla CA). Los lisados celulares se expusieron a los anticuerpos de inmunoprecipitación durante la noche a 4 °C. Después, se incubaron los complejos inmunitarios durante 2 horas a 4 °C con las perlas de proteína A/G agarosa apropiadas. Las inmunoprecipitaciones se centrifugaron y se lavaron 3 veces con PBS y el sedimento final de perlas se reconstituyó en 30 µl de tampón de muestra hervido durante 5 minutos y las muestras se separaron mediante SDS al 8 %-PAGE seguida de Transferencia Western. Las transferencias Western se sondaron con los siguientes anticuerpos como se sugiere por los fabricantes: anti-fosfoMET (Y1234/1235), anti-MET, anti-pEGFR (tyr 1148), (Cell signaling, Pickering, ON), anti-Ronβ (C-20), anti EGFR (528), (Santa Cruz Biotechnology, Inc, La Jolla CA), anti-fosfotirosina (clon 4G10, Upstate, Temecula CA).

Se sembraron células DU145 en placas de 10 cm en medio de crecimiento (DMEM que contenía FBS al 10 %). Una vez que los cultivos alcanzaron el 70 % de confluencia, el medio se reemplazó por DMEM en ausencia de suero y se incubaron durante 48 horas adicionales. Después, las células se preincubaron durante 1 hora, ya sea en medio solo o en presencia de proteína de fusión dominio Sema:Fc (100 µg/ml) Después, las células se trataron simuladamente o se estimularon con Semaforina 3C (1:10) durante 10 min a 37 °C, CO₂ al 5 %. Las células se lavaron inmediatamente una vez en PBS enfriado con hielo, seguido de lisis con tampón RIPA que contenía inhibidores de proteasa, los lisados de proteínas se recogieron por raspado y los restos celulares y las membranas se retiraron mediante centrifugación. Los lisados de células enteras (1000 µg) se inmunoprecipitaron como se ha descrito

anteriormente con anti-MET y se analizaron mediante transferencia Western usando anti-pMET. La transferencia se extrajo y se volvió a sondear con anticuerpos anti-MET como control de carga.

EJEMPLO 13: Proliferación de células LNCaP inhibida por anticuerpos monoclonales anti-SEMA3C de ratón

El tratamiento de células LNCaP con un anticuerpo monoclonal dirigido contra SEMA3C suprimió el crecimiento de las células LNCaP (Figura 16). Se sembraron células LNCaP a una densidad de 500 células por pocillo en placas de 48 pocillos de cultivo tisular en medio de crecimiento (RPMI + FBS al 10 %). Veinticuatro horas más tarde el medio de crecimiento se reemplazó por medio RPMI suplementado con suero al 1 % en presencia de anticuerpo anti-Semaforina 3C de ratón 10 ug/ml (R & D Diagnostics, MN) o anti-IgGK de ratón (Betil Laboratories, Montgomery, TX). La proliferación se controló usando el kit de ensayo de proliferación CyQuant (Invitrogen, Mississauga, ON). El crecimiento celular se controló el Día 4 usando el kit de ensayo de proliferación celular CyQuant (Invitrogen, Mississauga, ON). Brevemente, las células se recogieron con tripsina, se transfirieron a placas de 96 pocillos de fondo en V y después se centrifugaron a 1400 rpm durante 4 minutos. El sobrenadante se retiró mediante golpecitos suaves y las células se lavaron una vez con PBS. Después, las células se centrifugaron seguido de la retirada del tampón de lavado. Las placas se congelaron inmediatamente a -80 °C durante un mínimo de 30 minutos antes de ejecutar el ensayo CyQuant. La fluorescencia se determinó con una excitación de 485 nm y una emisión de 527 nm en un Fluoroskan Ascent FL, (Thermo Labsystems, Helsinki, Finlandia).

El tratamiento de las células LNCaP con anticuerpo monoclonal anti-SEMA3C de ratón mostró una disminución en la proliferación en comparación con anti-IgGK de ratón (Figura 16). El resultado indica que los anticuerpos contra SEMA3C pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer de próstata.

Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo con fines de claridad de comprensión, será fácilmente evidente para los expertos en la materia, a la luz del contenido de la presente invención, que pueden hacerse cambios y modificaciones a la misma sin apartarse del espíritu o el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REFERENCIAS:

- Bruchovsky, N., P. Rennie, et al. (1988). *Mechanisms and effects of androgen withdrawal therapies. Prostatic Cancer: Rationale of endocrine management*. Berlin, Walter De Gruyter & Co.: 3-14.
- Bruchovsky, N., P. S. Rennie, et al. (1989). *Limitations of androgen withdrawal therapy of prostatic carcinoma-the next step? Prostate Cancer- The Second Tokyo Symposium*. Nueva York, Elsevier: 1-10.
- Cardinale, A. y S. Biocca (2008). "The potential of intracellular antibodies for therapeutic targeting of proteinmisfolding diseases". *Trends Mol Med* 14(9): 373-80.
- Giordano, S., S. Corso, et al. (2002). "The semaphorin 4D receptor controls invasive growth by coupling with Met". *Nat Cell Biol* 4(9): 720-4.
- Goldenberg, S. L., N. Bruchovsky, et al. (1988). "The combination of cyproterone acetate and low dose diethylstilbestrol in the treatment of advanced prostatic carcinoma". *J Urol* 140(6): 1460-5.
- Heinlein, C. A. y Chang C. (2004). "Androgen Receptor in Prostate Cancer". *Endocrine Reviews* 25(2): 276-308.
- Herman, J. G. y G. G. Meadows (2007). "Increased class 3 semaphorin expression modulates the invasive and adhesive properties of prostate cancer cells". *Int J Oncol* 30(5): 1231-8.
- Hudson, P. J. y C. Souriau (2003). "Engineered antibodies". *Nat Med* 9(1): 129-34.
- Huggins, C. y C. Hodges (1941). "Studies on prostatic cancer. I. the effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate". *Cancer Res* 1: 293-297.
- Isaacs, J., O. Cussenot, et al. (1997). "Growth regulation of normal and malignant prostatic cells". *First International Consultation on Prostate Cancer*: 31-87.
- Kolodkin, A. L., D. J. Matthes, et al. (1993). "The semaphorin genes encode a family of transmembrane and secreted growth cone guidance molecules". *Cell* 75(7): 1389-99.
- Kruger, R. P., J. Aurandt, et al. (2005). "Semaphorins command cells to move". *Nat Rev Mol Cell Biol* 6(10): 789-800.
- Lecerf, J. M., T. L. Shirley, et al. (2001). "Human single-chain Fv intrabodies counteract in situ huntingtin aggregation in cellular models of Huntington's disease". *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(8): 4764-9.
- Negishi, M., I. Oinuma, y H. Katoh. 2005. *Plexins: axon guidance and signal transduction*. *Cell Mol Life Sci* 62: 1363-1371.
- Pan, W. H. y G. A. Clawson (2006). "Identifying accessible sites in RNA: the first step in designing antisense reagents". *Curr Med Chem* 13(25): 3083-103.
- Patzel, V. (2007). "In silico selection of active siRNA". *Drug Discov Today* 12(3-4): 139-48.
- Peek, A. S. y M. A. Behlke (2007). "Design of active small interfering RNAs". *Curr Opin Mol Ther* 9(2): 110-8.
- Petrylak, D. P., C. M. Tangen, et al. (2004). "Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer". *N Engl J Med* 351(15): 1513-20.
- Swiercz, J. M., R. Kuner, et al. (2004). "Plexin-B1/RhoGEF-mediated RhoA activation involves the receptor tyrosine kinase ErbB-2". *J Cell Biol* 165(6): 869-80.
- Swiercz, J. M., T. Worzfeld, et al. (2008). "ErbB-2 and met reciprocally regulate cellular signaling via plexin-B1". *J Biol Chem* 283(4): 1893-901.

Tamagnone, L. y P. M. Comoglio (2000). "Signalling by semaphorin receptors: cell guidance and beyond". *Trends Cell Biol* 10(9): 377-83.

Tannock, I. F., R. de Wit, et al. (2004). "Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer". *N Engl J Med* 351(15): 1502-12.

5 Verras, M., J. Lee, et al. (2007). "The androgen receptor negatively regulates the expression of c-Met: implications for a novel mechanism of prostate cancer progression". *Cancer Res* 67(3): 967-75.

LISTADO INFORMAL DE SECUENCIAS

10 **SEQ ID NO: 1** - SEMA3C humana de longitud completa - 751aa

MAFRTICVLVGVFICSICVKGSSQPQARVYLTFDELRETKTSEYFSLSHHPLDYRILLMDEDQDRIYVGSKD
HILSLNINNISQEALSVFWPASTIKVEECKMAGKDPETHGCGNFVRVIQTfNRTHLYVCGSGAFSPVCTYLN
GRRSEDQVFMIDSKCESGKGRCSEFNPVNTVSVMINEELFSGMYIDFMGTDAAIFRSLTKRNAVRTDQHNSK
WLSEPMFVDAHVIPDGTDPNDKVFYFFFEKELTDNNRSTKQIHSMIARICPNDTGGLRSLVNKWTFLKARL
VCSVTDEDEGPETHFDELEDVFLLETDPNRTTLVYGIFTTSSSVFKGSACVYHLSDIQTVFNGPFAHKEGPN
HQLISYQGRIPIYPRPGTCPPGAFTPNMRTTKEFPDDVVTfIRNHPLMYSIYPIHKRPLIVRIGTDYKYTKI
AVDRVNAADGRYHVLFLGTDRTGTVQKVVVLPNTNSVSGELILEELEVFKNHAPITTMKISSKKQQLYVSSNE
GVSQVSLHRCHIIYGTACADCLARDPYCAWDGHSCSRFYPTGKRRSRQDVRHGNPLTQCRGFNLKAYRNAA
EIVQYGVKNNTTFLECAPKSPQASIKWLLQKDKDRRKEVKLNERIIATSQGLLIRSQQGSDQGLYHCIATEN
SFKQTIKINFKVLDSEMVAVVTDKWSPTWASSVRALPFHPKDIMGAFSHSEMOMINQYCKDTRQQHQQQGD
ESQKMRGDYGKLKALINSRKSRRNRNQLPES

15 **SEQ ID NO: 2** - Compuesto de interferencia de ARN capaz de inhibir la expresión de SEMA3C, 20nt 5'-AUGGCAUUCCGGACAAUUUG-3'

SEQ ID NO: 3 - SEMA3C humana truncada, que comprende el Dominio SEMA - 495aa

MAFRTICVLVGVFICSICVKGSSQPQARVYLTFDELRETKTSEYFSLSHHPLDYRILLMDEDQDRIYVGSKD
HILSLNINNISQEALSVFWPASTIKVEECKMAGKDPETHGCGNFVRVIQTfNRTHLYVCGSGAFSPVCTYLN
GRRSEDQVFMIDSKCESGKGRCSEFNPVNTVSVMINEELFSGMYIDFMGTDAAIFRSLTKRNAVRTDQHNSK
WLSEPMFVDAHVIPDGTDPNDKVFYFFFEKELTDNNRSTKQIHSMIARICPNDTGGLRSLVNKWTFLKARL
VCSVTDEDEGPETHFDELEDVFLLETDPNRTTLVYGIFTTSSSVFKGSACVYHLSDIQTVFNGPFAHKEGPN
HQLISYQGRIPIYPRPGTCPPGAFTPNMRTTKEFPDDVVTfIRNHPLMYSIYPIHKRPLIVRIGTDYKYTKI
AVDRVNAADGRYHVLFLGTDRTGTVQKVVVLPNTNSVSGELILEELEVFKNHAPITTMKISSKK

20 **SEQ ID NO: 4** – La porción subrayada y en negrita de SEMA3C (ARNm de 5189 pb NM_006379) muestra una secuencia de ARN antisentido (SEQ ID NO: 2)

ES 2 637 442 T3

```

1    ggactgcgaa aggagcaggg ttgcggagct agggctccag cctgcggccg cgcattcttg
61   cgtctggcca gccgcgagct ctaagggtcg gcccgcgccg gtccgcccc cgggctccct
121  gccaggctct cgcgggcgcg ctcggggtgg ggccctcgcg ctggcggaga tgcggccggg
181  gctgcgcggt ggtgatgcga gcctgctggg cggcgcgcg gggcagccgg agccgcgcgc
241  cgcggcgctg taatcggaca ccaagagcgc tcgcccccg cctccggcca ctttccattc
301  actccgaggt gcttgattga gcgacgcgga gaagagctcc gggtgcccg gcactgcagc
361  gctgagattc ctttacaag aaactcagag gaccgggaag aaagaatttc acctttgcga
421  cgtgctagaa aataaggtcg tctgggaaaa ggactggaga cacaagcgca tccaaccccg
481  gtagcaaact gatgactttt ccgtgctgat ttctttcaac ctcggtattt tcccttggtt
541  attaacttgc atatctgaag aaatggcatt ccggacaatt tgcggtgttg ttggagtatt
601  tatttgttct atctgtgtga aaggatcttc ccagcccaa gcaagagttt atttaacatt
661  tgatgaactt cgagaaacca agacctctga atacttcagc ctttcccacc atcctttaga
721  ctacaggatt ttattaatgg atgaagatca ggaccggata tatgtgggaa gcaaagatca
781  cattctttcc ctgaatatta acaatataag tcaagaagct ttgagtgttt tctggccagc
841  atctacaatc aaagttgaag aatgcaaaat ggctggcaaa gatccacac acggctgttg
901  gaactttgtc cgtgtaattc agactttcaa tcgcacacat ttgtatgtct gtgggagtgg
961  cgctttcagt cctgtctgta cttacttgaa cagagggagg agatcagagg accaagtttt
1021 catgattgac tccaagtgtg aatctggaaa aggacgctgc tctttcaacc ccaacgtgaa
1081 cacggtgtct gttatgatca atgaggagct tttctctgga atgtatatag atttcatggg
1141 gacagatgct gctatttttc gaagtttaac caagaggaat gcggtcagaa ctgatcaaca
1201 taattccaaa tggctaagtg aacctatgtt tgtagatgca catgtcatcc cagatggtac
1261 tgatccaaat gatgctaagg tgtacttctt cttcaaagaa aaactgactg acaataacag
1321 gagcacgaaa cagattcatt ccatgattgc tcgaatatgt cctaatagaca ctggtggact
1381 gcgtagcctt gtcaacaagt ggaccacttt cttaaaggcg aggctggtgt gctcggtaac
1441 agatgaagac ggcccagaaa cacactttga tgaattagag gatgtgtttc tgctggaaac
1501 tgataacccg aggacaacac tagtgtatgg catttttaca acatcaagct cagttttcaa
1561 aggatcagcc gtgtgtgtgt atcatttatc tgatatacag actgtgttta atgggcottt
1621 tgcccacaaa gaagggccca atcatcagct gatttcctat cagggcagaa ttccatatcc
1681 tcgccctgga acttgtccag gaggagcatt tacaccaat atgcgaacca ccaaggagtt
1741 cccagatgat gttgtcactt ttattcggaa ccatcctctc atgtacaatt ccatctaccc

```

ES 2 637 442 T3

```

1801 aatccacaaa aggcctttga ttgttcgtat tggcactgac tacaagtata caaagatagc
1861 tgtggatcga gtgaacgctg ctgatgggag ataocatgtc ctgtttctcg gaacagatcg
1921 gggactgtg caaaaagtgg ttgttcttcc tactaacaac tctgtcagtg gcgagctcat
1981 tctggaggag ctggaagtct ttaagaatca tgctcctata acaacaatga aaatttcatc
2041 taaaaagcaa cagttgtatg tgagttccaa tgaaggggtt tcccaggtat ctctgcaccg
2101 ctgccacatc tatggtacag cctgtgctga ctgctgcctg gcgcgggacc cttattgcgc
2161 ctgggatggc cattcctgtt ccagattcta cccaactggg aaacggagga gccgaagaca
2221 agatgtgaga catggaaacc cactgactca atgcagagga tttaatctaa aagcatacag
2281 aaatgcagct gaaattgtgc agtatggagt aaaaaataac accacttttc tggagtgtgc
2341 cccaagtct ccgcaggcat ctatcaagtg gctgttacag aaagacaaag acaggaggaa
2401 agaggttaag ctgaatgaac gaataatagc cacttcacag ggactcctga tccgctctgt
2461 tcagggttct gaccaaggac tttatcactg cattgctaca gaaaatagtt tcaagcagac
2521 catagccaag atcaacttca aagttttaga ttcagaaatg gtggctgttg tgacggacaa
2581 atgggtccca tggacctggg ccagctctgt gagggcttta cccttccacc cgaaggacat
2641 catgggggca ttcagccact cagaaatgca gatgattaac caatattgca aagacactcg
2701 gcagcaacat cagcaggag atgaatcaca gaaaatgaga ggggactatg gcaagttaaa
2761 ggccctcatc aatagtcgga aaagtagaaa caggaggaat cagttgccag agtcataata
2821 ttttcttatg tgggtcttat gcttccatta acaaatgctc tgtcttcaat gatcaaattt
2881 tgagcaaaga aacttgtgct ttaccaaggg gaattactga aaaaggtgat tactcctgaa
2941 gtgagtttta caggaactga aatgagcatg ctttttcttg tatgatagt actagcacta
3001 gacatgtcat ggtcctcatg gtgcatataa atatatttaa ctttaaccag attttattta
3061 tatctttatt caccttttct tcaaaatcga tatggtggct gcaaaactag aattgttgca
3121 tccctcaatt gaatgagggc catatccctg ttgtattcct ttctgtcttt ggggctttag
3181 aattctaatt gtcagtgatt ttgtatatga aaacaagttc caaatccaca gcttttacgt
3241 agtaaaagtc ataaatgcat atgacagaat ggctatcaaa agaaatagaa aaggaagacg
3301 gcattttaag ttgtataaaa acacgagtta ttcataaaga gaaaatgatg agtttttatg
3361 gttccaatga aatatgttgg ggttttttta agattgtaaa aataatcagt tactggatc
3421 tgtcactgac ctttgtttcc ttattcagga agataaaaaat cagtaaccta ccccatgaag
3481 atatttgggtg ggagttatat cagtgaagca gtttggttta tattcttatg ttatcacctt
3541 ccaacaaaaa gcacttactt ttttgggaag ttatttattt tagactcaaa gaatataatc
3601 ttgcactact cagttattac tgttgttct cttattccct agtctgtgtg gcaaattaaa
3661 caatataaga aggaaaaatt tgaagtatta gacttctaaa taaggggtga aatcatcaga
3721 aagaaaaatc aaagtagaaa ctactaattt ttttaagagga atttataaca aatatggcta
3781 gttttcaact tcagtactca aattcaatga ttcttctttt tattaacc agtctcagat
3841 atcactactga tttttaagtc aacactatat attttatgat cttttcagtg tgatggcaag
3901 gtgcttggtta tgtctagaaa gtaagaaaac aatatgagga gacattctgt ctttcaaaag
3961 gtaatggtac atacgttcac tgggtctctaa gtgtaaaagt agtaaatatt gtgatgaata
4021 aaataattat ctctaatttg tatgttagaa taattttatt agaataattt catactgaaa
4081 ttattttctc caaataaaaa ttagatggaa aaatgtgaaa aaaattattc atgctctcat
4141 atatatttta aaaacactac ttttgctttt ttatttacct tttaagacat tttcatgctt
4201 ccaggtaaaa acagatattg taccatgtac ctaatccaaa tatcatataa acattttatt
4261 tatagttaat aatctatgat gaaggtaatt aaagtagatt atggcctttt taagtattgc
4321 agtctaaaac ttcaaaaact aaaatcattg tcaaaaattaa tatgattatt aatcagaata
4381 tcagaatatg attcactatt taaactatga taaattatga taatatatga ggaggcctcg
4441 ctatagcaaa aatagttaaa atgctgacat aacaccaaac ttcatttttt aaaaaatctg
4501 ttgttccaaa tgtgtataat tttaaagtaa tttctaaagc agtttattat aatggtttgc
4561 ctgcttaaaa ggtataatta aacttctttt ctcttctaca ttgacacaca gaaatgtgtc
4621 aatgtaaagc caaaaccatc ttctgtgttt atggccaatc tattctcaaa gttaaaagta
4681 aaattgtttc agagtccacag ttccctttat ttacataaag cccaaactga tagacagtaa
4741 cgggtgtttag ttttatacta tatttgtgct atttaattct ttctattttc acaattatta
4801 aattgtgtac actttcatta cttttaaaaa tgtagaaatt cttcatgaac ataactctgc
4861 tgaatgtaaa agaaaatttt ttttcaaaaa tgctgttaat gtatactact ggtggttgat
4921 tggtttttatt ttatgtagct tgacaattca gtgacttaat atctattcca tttgtattgt
4981 acataaaaatt ttctagaaat acactttttt ccaaagtgtg agtttgtgaa tagatttttag
5041 catgatgaaa ctgtcataat ggtgaatgtt caatctgtgt aagaaaacaa actaaatgta
5101 gttgtcacac taaaatttaa ttggatattg atgaaatcat tggcctggca aaataaaaaca
5161 tgttgaattc cccaaaaaaa aaaaaaaa

```

Tabla 2: Secuencias antisentidos de gene walk para la SEMA3C humana

aatattatgactctggcaac (SEQ ID NO: 5)
tgattcctcctgtttctact (SEQ ID NO: 6)
ttccgactattgatgaggg (SEQ ID NO: 7)
cctttaacttgccatagtcc (SEQ ID NO: 8)
cctctcattttctgtgattc (SEQ ID NO: 9)
atctccctgctgatgttgct (SEQ ID NO: 10)
gccgagtgctttgcaatat (SEQ ID NO: 11)
tggttaatcatctgcatttc (SEQ ID NO: 12)
tgagtggctgaatgccccca (SEQ ID NO: 13)
tgatgtccttcgggtggaag (SEQ ID NO: 14)
ggtaaagccctcacagagct (SEQ ID NO: 15)
ggcccaggatcctggggacc (SEQ ID NO: 16)
attgtccgtcacaacagcc (SEQ ID NO: 17)
accatttctgaatctaaaac (SEQ ID NO: 18)
tttgaagttgatcttggtta (SEQ ID NO: 19)
tggtctgctgaaactattt (SEQ ID NO: 20)
tctgtagcaatgcagtata (SEQ ID NO: 21)
aagtccttggtcagaaccct (SEQ ID NO: 22)
gaacagagcggatcaggagt (SEQ ID NO: 23)
ccctgtgaagtggtattat (SEQ ID NO: 24)
tcgttcattcagcttaacct (SEQ ID NO: 25)
ctttcctcctgtcttctgt (SEQ ID NO: 26)
ttctgtaacagccacttgat (SEQ ID NO: 27)
agatgcctgcggagacttgg (SEQ ID NO: 28)
gggcacactccagaaaagt (SEQ ID NO: 29)
gtgtatttttactccata (SEQ ID NO: 30)
ctgcacaattcagctgcat (SEQ ID NO: 31)
ttctgtatgcttttagatta (SEQ ID NO: 32)
aatcctctgcattgagtcag (SEQ ID NO: 33)
tgggtttccatgtctcacat (SEQ ID NO: 34)
ctgtcttcggctcctccgt (SEQ ID NO: 35)
ttcccagttgggtagaatct (SEQ ID NO: 36)
ggaacaggaatggccatccc (SEQ ID NO: 37)
aggcgcaataagggtccgc (SEQ ID NO: 38)
gccaggcagcagtcagcaca (SEQ ID NO: 39)
ggctgtaccatagatgtggc (SEQ ID NO: 40)
agcgggtgcagagatactgg (SEQ ID NO: 41)
gaaaccccttcattggaact (SEQ ID NO: 42)
cacatacaactgttgctttt (SEQ ID NO: 43)

tagatgaaattttcattgtt (SEQ ID NO: 44)
gttataggagcatgattctt (SEQ ID NO: 45)
aaagactccagctcctcca (SEQ ID NO: 46)
gaatgagctcgccactgaca (SEQ ID NO: 47)
gagttgtagtaggaagaac (SEQ ID NO: 48)
aaccacttttgcacagtac (SEQ ID NO: 49)
cccgatctgtccgagaaac (SEQ ID NO: 50)
aggacatggtatctccatc (SEQ ID NO: 51)
agcagcggtcactcgatcca (SEQ ID NO: 52)
cagctatcttgtatacttg (SEQ ID NO: 53)
tagtcagtgccaatacgaac (SEQ ID NO: 54)
aatcaaaggcctttgtgga (SEQ ID NO: 55)
ttgggtagatggaattgtac (SEQ ID NO: 56)
atgagaggatggtccgaat (SEQ ID NO: 57)
aaaagtgacaacatcatctg (SEQ ID NO: 58)
ggaactccttggtggtcgc (SEQ ID NO: 59)
atattgggtgtaaatgctcc (SEQ ID NO: 60)
tcctggacaagttccagggc (SEQ ID NO: 61)
gaggatatggaattctgccc (SEQ ID NO: 62)
tgataggaaatcagctgatg (SEQ ID NO: 63)
attgggcccttcttgtggg (SEQ ID NO: 64)
caaaaggccattaaacaca (SEQ ID NO: 65)
gtctgtatatcagataaatg (SEQ ID NO: 66)
atacacacacacggctgatc (SEQ ID NO: 67)
ctttgaaaactgagcttgat (SEQ ID NO: 68)
gttgtaaaaatgccatacac (SEQ ID NO: 69)
tagtgtgtctctcgggttat (SEQ ID NO: 70)
cagttccagcagaaacaca (SEQ ID NO: 71)
tcctctaattcatcaaagtg (SEQ ID NO: 72)
tgtttctgggccgttctcat (SEQ ID NO: 73)
ctgttaccgagcacaccagc (SEQ ID NO: 74)
ctcgccttaagaaagtgtt (SEQ ID NO: 75)
ccactgttgacaaggctac (SEQ ID NO: 76)
gcagtccaccagtgtcatta (SEQ ID NO: 77)
ggacatattcgagcaatcat (SEQ ID NO: 78)
ggaatgaatctgttctgtgc (SEQ ID NO: 79)
tcctgttattgtcagtcagt (SEQ ID NO: 80)
tttctttgaagaagaagta (SEQ ID NO: 81)
caccttagcatcatttggat (SEQ ID NO: 82)
cagtaccatctgggatgaca (SEQ ID NO: 83)

tgtgcatctacaacatagg (SEQ ID NO: 84)
ttcacttagccatttgaat (SEQ ID NO: 85)
tatgttgatcagttctgacc (SEQ ID NO: 86)
gcattcctctgggttaaact (SEQ ID NO: 87)
tcgaaaaatagcagcatctg (SEQ ID NO: 88)
tcccatgaaatctatatac (SEQ ID NO: 89)
attccagagaaaagctcctc (SEQ ID NO: 90)
attgatcataacagacaccg (SEQ ID NO: 91)
tggtcacgttgggggtgaaa (SEQ ID NO: 92)
gagcagcgctctttccaga (SEQ ID NO: 93)
ttcacacttgagtgcaatca (SEQ ID NO: 94)
tgaaaacttggtcctctgat (SEQ ID NO: 95)
ctcctccctctgttcaagta (SEQ ID NO: 96)
agtacagacaggactgaaag (SEQ ID NO: 97)
cgccactcccacagacatac (SEQ ID NO: 98)
aaatgtgtgcatgaaagt (SEQ ID NO: 99)
ctgaattacacggacaaagt (SEQ ID NO: 100)
tcccacagccgtgtgtggga (SEQ ID NO: 101)
tcttgccagccattttgca (SEQ ID NO: 102)
ttctcaacttgattgttag (SEQ ID NO: 103)
atgctggccagaaaacactc (SEQ ID NO: 104)
aaagctcttgacttatatt (SEQ ID NO: 105)
gttaatttcagggaaagaa (SEQ ID NO: 106)
tgtgatctttgctccaca (SEQ ID NO: 107)
tatatccggtcctgatcttc (SEQ ID NO: 108)
atccattaataaaatcctgt (SEQ ID NO: 109)
agtctaaaggatggtgggaa (SEQ ID NO: 110)
aggctgaagtattcagaggt (SEQ ID NO: 111)
cttggtttctcgaagttcat (SEQ ID NO: 112)
caaagttaaataaactctt (SEQ ID NO: 113)
gcttggggctgggaagatcc (SEQ ID NO: 114)
ttcacacagatagaacaaa (SEQ ID NO: 115)
taaatactccaaccaacacg (SEQ ID NO: 116)
caaattgtccggaatgccat (SEQ ID NO: 117)
cttgccagccattttgcat (SEQ ID NO: 118)
tacctgggaaacccttcat (SEQ ID NO: 119)

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> The University of British Columbia
ONG, Christopher J.
PEACOCK, James

HAYASHI, Norihiro
GLEAVE, Martin E.

<120> PRODUCTOS TERAPÉUTICOS INHIBIDORES DE SEMAFORINA 3C (SEMA3C), MÉTODOS Y USOS

<130> 80021-1141

<140> PCT/CA2010/000514

<141> 01-04-2010

<150> 61/202.756

<151> 01-04-2009

<160> 119

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 751

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

Met Ala Phe Arg Thr Ile Cys Val Leu Val Gly Val Phe Ile Cys Ser
1 5 10 15

Ile Cys Val Lys Gly Ser Ser Gln Pro Gln Ala Arg Val Tyr Leu Thr
20 25 30

Phe Asp Glu Leu Arg Glu Thr Lys Thr Ser Glu Tyr Phe Ser Leu Ser
35 40 45

His His Pro Leu Asp Tyr Arg Ile Leu Leu Met Asp Glu Asp Gln Asp
50 55 60

Arg Ile Tyr Val Gly Ser Lys Asp His Ile Leu Ser Leu Asn Ile Asn
65 70 75 80

Asn Ile Ser Gln Glu Ala Leu Ser Val Phe Trp Pro Ala Ser Thr Ile
85 90 95

Lys Val Glu Glu Cys Lys Met Ala Gly Lys Asp Pro Thr His Gly Cys
100 105 110

Gly Asn Phe Val Arg Val Ile Gln Thr Phe Asn Arg Thr His Leu Tyr
115 120 125

Val Cys Gly Ser Gly Ala Phe Ser Pro Val Cys Thr Tyr Leu Asn Arg
130 135 140

ES 2 637 442 T3

Gly	Arg	Arg	Ser	Glu	Asp	Gln	Val	Phe	Met	Ile	Asp	Ser	Lys	Cys	Glu	145	150	155	160
Ser	Gly	Lys	Gly	Arg	Cys	Ser	Phe	Asn	Pro	Asn	Val	Asn	Thr	Val	Ser	165	170	175	
Val	Met	Ile	Asn	Glu	Glu	Leu	Phe	Ser	Gly	Met	Tyr	Ile	Asp	Phe	Met	180	185	190	
Gly	Thr	Asp	Ala	Ala	Ile	Phe	Arg	Ser	Leu	Thr	Lys	Arg	Asn	Ala	Val	195	200	205	
Arg	Thr	Asp	Gln	His	Asn	Ser	Lys	Trp	Leu	Ser	Glu	Pro	Met	Phe	Val	210	215	220	
Asp	Ala	His	Val	Ile	Pro	Asp	Gly	Thr	Asp	Pro	Asn	Asp	Ala	Lys	Val	225	230	235	240
Tyr	Phe	Phe	Phe	Lys	Glu	Lys	Leu	Thr	Asp	Asn	Asn	Arg	Ser	Thr	Lys	245	250	255	
Gln	Ile	His	Ser	Met	Ile	Ala	Arg	Ile	Cys	Pro	Asn	Asp	Thr	Gly	Gly	260	265	270	
Leu	Arg	Ser	Leu	Val	Asn	Lys	Trp	Thr	Thr	Phe	Leu	Lys	Ala	Arg	Leu	275	280	285	
Val	Cys	Ser	Val	Thr	Asp	Glu	Asp	Gly	Pro	Glu	Thr	His	Phe	Asp	Glu	290	295	300	
Leu	Glu	Asp	Val	Phe	Leu	Leu	Glu	Thr	Asp	Asn	Pro	Arg	Thr	Thr	Leu	305	310	315	320
Val	Tyr	Gly	Ile	Phe	Thr	Thr	Ser	Ser	Ser	Val	Phe	Lys	Gly	Ser	Ala	325	330	335	
Val	Cys	Val	Tyr	His	Leu	Ser	Asp	Ile	Gln	Thr	Val	Phe	Asn	Gly	Pro	340	345	350	
Phe	Ala	His	Lys	Glu	Gly	Pro	Asn	His	Gln	Leu	Ile	Ser	Tyr	Gln	Gly	355	360	365	
Arg	Ile	Pro	Tyr	Pro	Arg	Pro	Gly	Thr	Cys	Pro	Gly	Gly	Ala	Phe	Thr	370	375	380	
Pro	Asn	Met	Arg	Thr	Thr	Lys	Glu	Phe	Pro	Asp	Asp	Val	Val	Thr	Phe	385	390	395	400
Ile	Arg	Asn	His	Pro	Leu	Met	Tyr	Asn	Ser	Ile	Tyr	Pro	Ile	His	Lys				

ES 2 637 442 T3

405	410	415
Arg Pro Leu Ile Val Arg Ile Gly Thr Asp Tyr Lys Tyr Thr Lys Ile		
420	425	430
Ala Val Asp Arg Val Asn Ala Ala Asp Gly Arg Tyr His Val Leu Phe		
435	440	445
Leu Gly Thr Asp Arg Gly Thr Val Gln Lys Val Val Val Leu Pro Thr		
450	455	460
Asn Asn Ser Val Ser Gly Glu Leu Ile Leu Glu Glu Leu Glu Val Phe		
465	470	475
Lys Asn His Ala Pro Ile Thr Thr Met Lys Ile Ser Ser Lys Lys Gln		
485	490	495
Gln Leu Tyr Val Ser Ser Asn Glu Gly Val Ser Gln Val Ser Leu His		
500	505	510
Arg Cys His Ile Tyr Gly Thr Ala Cys Ala Asp Cys Cys Leu Ala Arg		
515	520	525
Asp Pro Tyr Cys Ala Trp Asp Gly His Ser Cys Ser Arg Phe Tyr Pro		
530	535	540
Thr Gly Lys Arg Arg Ser Arg Arg Gln Asp Val Arg His Gly Asn Pro		
545	550	555
Leu Thr Gln Cys Arg Gly Phe Asn Leu Lys Ala Tyr Arg Asn Ala Ala		
565	570	575
Glu Ile Val Gln Tyr Gly Val Lys Asn Asn Thr Thr Phe Leu Glu Cys		
580	585	590
Ala Pro Lys Ser Pro Gln Ala Ser Ile Lys Trp Leu Leu Gln Lys Asp		
595	600	605
Lys Asp Arg Arg Lys Glu Val Lys Leu Asn Glu Arg Ile Ile Ala Thr		
610	615	620
Ser Gln Gly Leu Leu Ile Arg Ser Val Gln Gly Ser Asp Gln Gly Leu		
625	630	635
Tyr His Cys Ile Ala Thr Glu Asn Ser Phe Lys Gln Thr Ile Ala Lys		
645	650	655
Ile Asn Phe Lys Val Leu Asp Ser Glu Met Val Ala Val Val Thr Asp		
660	665	670

Lys Trp Ser Pro Trp Thr Trp Ala Ser Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe
675 680 685

His Pro Lys Asp Ile Met Gly Ala Phe Ser His Ser Glu Met Gln Met
690 695 700

Ile Asn Gln Tyr Cys Lys Asp Thr Arg Gln Gln His Gln Gln Gly Asp
705 710 715 720

Glu Ser Gln Lys Met Arg Gly Asp Tyr Gly Lys Leu Lys Ala Leu Ile
725 730 735

Asn Ser Arg Lys Ser Arg Asn Arg Arg Asn Gln Leu Pro Glu Ser
740 745 750

<210> 2

<211> 20

<212> ARN

<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C 20nt)

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 2

auggcauuucc ggacaaauug 20

<210> 3

<211> 495

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 3

Met Ala Phe Arg Thr Ile Cys Val Leu Val Gly Val Phe Ile Cys Ser
1 5 10 15

Ile Cys Val Lys Gly Ser Ser Gln Pro Gln Ala Arg Val Tyr Leu Thr
20 25 30

Phe Asp Glu Leu Arg Glu Thr Lys Thr Ser Glu Tyr Phe Ser Leu Ser
35 40 45

His His Pro Leu Asp Tyr Arg Ile Leu Leu Met Asp Glu Asp Gln Asp
50 55 60

Arg Ile Tyr Val Gly Ser Lys Asp His Ile Leu Ser Leu Asn Ile Asn
65 70 75 80

Asn Ile Ser Gln Glu Ala Leu Ser Val Phe Trp Pro Ala Ser Thr Ile
85 90 95

ES 2 637 442 T3

Lys	Val	Glu	Glu	Cys	Lys	Met	Ala	Gly	Lys	Asp	Pro	Thr	His	Gly	Cys	
			100					105						110		
Gly	Asn	Phe	Val	Arg	Val	Ile	Gln	Thr	Phe	Asn	Arg	Thr	His	Leu	Tyr	
		115					120					125				
Val	Cys	Gly	Ser	Gly	Ala	Phe	Ser	Pro	Val	Cys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Arg	
	130					135					140					
Gly	Arg	Arg	Ser	Glu	Asp	Gln	Val	Phe	Met	Ile	Asp	Ser	Lys	Cys	Glu	
145					150					155					160	
Ser	Gly	Lys	Gly	Arg	Cys	Ser	Phe	Asn	Pro	Asn	Val	Asn	Thr	Val	Ser	
				165					170					175		
Val	Met	Ile	Asn	Glu	Glu	Leu	Phe	Ser	Gly	Met	Tyr	Ile	Asp	Phe	Met	
			180					185					190			
Gly	Thr	Asp	Ala	Ala	Ile	Phe	Arg	Ser	Leu	Thr	Lys	Arg	Asn	Ala	Val	
		195					200						205			
Arg	Thr	Asp	Gln	His	Asn	Ser	Lys	Trp	Leu	Ser	Glu	Pro	Met	Phe	Val	
	210					215					220					
Asp	Ala	His	Val	Ile	Pro	Asp	Gly	Thr	Asp	Pro	Asn	Asp	Ala	Lys	Val	
225					230					235					240	
Tyr	Phe	Phe	Phe	Lys	Glu	Lys	Leu	Thr	Asp	Asn	Asn	Arg	Ser	Thr	Lys	
				245					250					255		
Gln	Ile	His	Ser	Met	Ile	Ala	Arg	Ile	Cys	Pro	Asn	Asp	Thr	Gly	Gly	
			260					265					270			
Leu	Arg	Ser	Leu	Val	Asn	Lys	Trp	Thr	Thr	Phe	Leu	Lys	Ala	Arg	Leu	
		275					280					285				
Val	Cys	Ser	Val	Thr	Asp	Glu	Asp	Gly	Pro	Glu	Thr	His	Phe	Asp	Glu	
	290					295					300					
Leu	Glu	Asp	Val	Phe	Leu	Leu	Glu	Thr	Asp	Asn	Pro	Arg	Thr	Thr	Leu	
305					310					315					320	
Val	Tyr	Gly	Ile	Phe	Thr	Thr	Ser	Ser	Ser	Val	Phe	Lys	Gly	Ser	Ala	
			325						330					335		
Val	Cys	Val	Tyr	His	Leu	Ser	Asp	Ile	Gln	Thr	Val	Phe	Asn	Gly	Pro	
			340					345					350			

ES 2 637 442 T3

Phe Ala His Lys Glu Gly Pro Asn His Gln Leu Ile Ser Tyr Gln Gly
355 360 365

Arg Ile Pro Tyr Pro Arg Pro Gly Thr Cys Pro Gly Gly Ala Phe Thr
370 375 380

Pro Asn Met Arg Thr Thr Lys Glu Phe Pro Asp Asp Val Val Thr Phe
385 390 395 400

Ile Arg Asn His Pro Leu Met Tyr Asn Ser Ile Tyr Pro Ile His Lys
405 410 415

Arg Pro Leu Ile Val Arg Ile Gly Thr Asp Tyr Lys Tyr Thr Lys Ile
420 425 430

Ala Val Asp Arg Val Asn Ala Ala Asp Gly Arg Tyr His Val Leu Phe
435 440 445

Leu Gly Thr Asp Arg Gly Thr Val Gln Lys Val Val Val Leu Pro Thr
450 455 460

Asn Asn Ser Val Ser Gly Glu Leu Ile Leu Glu Glu Leu Glu Val Phe
465 470 475 480

Lys Asn His Ala Pro Ile Thr Thr Met Lys Ile Ser Ser Lys Lys
485 490 495

<210> 4

<211> 5189

<212> ARN

<213> *Homo sapiens* (SEMA3C (ARNm de 5189 pb NM_006379))

<400> 4

ES 2 637 442 T3

ggacugcgaa aggagcaggg uugcggagcu agggcuccag ccugcggccg cgcauucuu	60
cgucuggcca gccgcgagcu cuaaggguccg gcccgcgccg guccgcgccg gcggcuccu	120
gccaggcucu cgcgggcgcg cucggggugg ggccucgcgcg cuggcggaga ugcggccggg	180
gcugcgcggu ggugaugcga gccugcuggg cggcgcgcgcg gggcagcccg agccgcgcgc	240
cgcgggcgcg uaaucggaca ccaagagcgc ucgcccccg ccuccggcca cuuuccauuc	300
acuccgaggu gcuugauuga gcgacgcgga gaagagcucc gggugccgcg gcacugcagc	360
gcugagauuc cuuuacaaag aaacucagag gaccgggaag aaagaauuuc accuuugcga	420
cgugcuagaa aauaaggucg ucugggaaaa ggacuggaga cacaagcgca uccaaccccg	480
guagcaaacu gaugacuuu ccgugcugau uucuuucaac cucgguauu ucccuuggau	540
auuaacuugc auaucugaag aaauggcauu ccggacaauu ugcguguugg uuggaguauu	600
uauuuguucu aucuguguga aaggauuc ccagcccaa gcaagaguuu auuuaacauu	660
ugaugaacuu cgagaaacca agaccucuga auacuucagc cuuuccacc auccuuuaga	720

cuacaggauu	uuauuaaugg	augaagauca	ggaccggaua	uauuggggaa	gcaaagauca	780
cauucuuucc	cugaauauua	acaauuaag	ucaagaagcu	uugaguguuu	ucuggccagc	840
aucuacaau	aaaguugaag	aaugcaaaau	ggcuggcaaa	gaucacacac	acggcugugg	900
gaacuuguc	cguguaauuc	agacuuaaa	ucgcacacau	uuguaugucu	gugggagugg	960
cgcuuucagu	ccugucugua	cuuacuugaa	cagagggagg	agaucagagg	accaaguuuu	1020
caugauugac	uccaagugug	aaucuggaaa	aggacgcugc	ucuuucaacc	ccaacgugaa	1080
cacggugucu	guuaugauca	augagggagc	uuucucugga	auguauauag	auuucagugg	1140
gacagaugcu	gcuaauuuuc	gaaguuaaac	caagaggaa	gcggucagaa	cugaucaaca	1200
uaauuccaaa	uggcuuaagug	aaccuauguu	uguagaugca	caugucaucc	cagaugguac	1260
ugauccaaa	gaugcuuaag	uguacuucuu	cuucaaagaa	aaacugacug	acaauaacag	1320
gagcacgaaa	cagauucauu	ccaugauugc	ucgaauaugu	ccuaaugaca	cugguggacu	1380
gcguagccuu	gucaacaagu	ggaccacuuu	cuuaaaggcg	aggcuggugu	gcucgguaac	1440
agaugaagac	ggcccagaaa	cacacuuga	ugaauuagag	gauguguuuc	ugcuggaaac	1500
ugauaaccg	aggacaacac	uaguguaugg	cauuuuuaca	acaucagcu	caguuuucaa	1560
aggauagacc	gugugugugu	aucauuuau	ugauauacag	acuguguuua	augggccuuu	1620
ugcccacaaa	gaagggccca	aucaucagcu	gauuuccuau	cagggcagaa	uuccauaucc	1680
ucggccugga	acuuguccag	gaggagcauu	uacacccaau	augcgaacca	ccaaggaguu	1740
cccagaugau	guugucacuu	uuauucggaa	ccaucucuc	auguacaauu	ccaucuaacc	1800
aauccacaaa	aggccuuuga	uuguucguau	uggcacugac	uacaaguaua	caaagauagc	1860
uguggaucga	gugaacgcug	cugaugggag	auaccauguc	cuguuucucg	gaacagaucg	1920
ggguacugug	caaaaagugg	uuguucuuuc	uacuaacaac	ucugucagug	gcgagcucau	1980
ucuggaggag	cuggaagucu	uuagaauca	ugcuccuaua	acaacaauga	aaauuauuc	2040
uaaaaagcaa	caguuguaug	ugaguuccaa	ugaagggguu	ucccagguau	cucugcaccg	2100
cugccacauc	uauuguacag	ccugugcuga	cugcugccug	gcgcgggacc	cuuauugcgc	2160
cugggauggc	cauuccuguu	ccagauucua	cccaacuggg	aaacggaggga	gccgaagaca	2220
agaugugaga	cauggaaacc	cacugacuca	augcagagga	uuuaaucaaa	aagcauacag	2280
aaaugcagcu	gaaaauuguc	aguauaggag	aaaaauaac	accacuuuuc	uggagugugc	2340
ccccagucuu	ccgcaggcau	cuaucaagug	gcuguuacag	aaagacaaa	acaggaggaa	2400
agaggguuag	cugaauaag	gaauaauagc	cacuucacag	ggacuccuga	uccgcucugu	2460
ucagggguucu	gaccaaggac	uuuauacug	cauugcuaca	gaaaauaguu	ucaagcagac	2520
cauagccaag	aucaacuuc	aaguuuuaga	uucagaaaug	guggcuguu	ugacggacaa	2580
auggucccca	uggaccuggg	ccagcucugu	gagggcuuu	cccuuccacc	cgaaggacau	2640

ES 2 637 442 T3

cauggggggca	uucagccacu	cagaaaugca	gaugauuaac	caauauugca	aagacacucg	2700
gcagcaacau	cagcagggag	augaauacaca	gaaaauagaga	ggggacuau	gcaaguuaaa	2760
ggcccucauc	aaugucgga	aaaguagaaa	caggaggaau	caguugccag	agucuaaaua	2820
uuuucuuaug	ugggucuuau	gcuccauua	acaaaugcuc	ugucuucaau	gaucaaaauu	2880
ugagcaaga	aacuugugcu	uuaccaaggg	gaauuacuga	aaaaggugau	uacuccugaa	2940
gugaguuuua	cacgaacuga	aaugagcaug	cauuuucuu	uauagauagug	acuagcacua	3000
gacauugcau	gguccucaug	gugcauaaua	auauauuuua	cuuaaccag	auuuuauuuu	3060
uauuuuuuu	caccuuuuu	ucaaaaucga	uauuggggcu	gcaaaacuag	aauguugca	3120
ucccucaauu	gaugagggc	cauauccug	ugguauuccu	uuccugcuu	ggggcuuag	3180
aaucuaauu	gucagugauu	uuuuauauga	aaacaaguuc	caauccaca	gcuuuuacgu	3240
aguaaaaguc	auaaaugcau	augacagaau	ggcuaucaaa	agaaauagaa	aaggaagacg	3300
gcauuuaaag	uuuuauaaaa	acacgaguuu	uucuuuaaga	gaaaauaug	aguuuuuuag	3360
guuccaauga	aaauugugg	gguuuuuuu	agauuguaaa	aaauaucagu	uacugguauc	3420
ugucacugac	cuuuguuucc	uuauucagga	agauaaaaau	caguaaccua	ccccaugaag	3480
auauuugggug	ggaguuauau	cagugaagca	guuugguuuu	uauucuuau	uuaucccuu	3540
ccaaacaaaa	gcacuuacuu	uuuuuggaag	uuuuuuuuu	uagacucaaa	gaauauauuc	3600
uugcacuacu	caguuaauac	uguuuguuu	cuuaaucccu	agucugugug	gcaauuuuaa	3660
caauauaaga	aggaaaaauu	ugaaguauua	gacuuucuaa	uaagggguga	aaucaucaga	3720
aagaaaaauc	aaaguagaaa	cuacuaauu	uuuaagagga	auuuauaaca	aaauuggcua	3780
guuuucaacu	ucaguacuca	aaucuauga	uucuuuccuu	uauuaaaacc	agucucagau	3840
aucauacuga	uuuuuaaguc	aacacuaauu	auuuuauug	cuuuucagug	ugauggcaag	3900
gugcuuguuu	ugucuaagaa	guaagaaaac	aaauagagga	gacauucugu	cuuucaaaaag	3960
guaaugguac	auacguucac	uggucucuaa	guguuaaagu	aguuaauuuu	gugaugaaua	4020
aaauaaauau	cuccuaauug	uauuuuagaa	uaauuuuuu	agaauuuuuu	cauacugaaa	4080
uuauuuucuc	caauuaaaaa	uuagauggaa	aaauuguaaa	aaaauuauuc	augcucucau	4140
auauauuuua	aaaacacua	uuuugcuuuu	uuuuuuaccu	uuuaagacau	uuucaugcuu	4200
ccagguaaaa	acagauauug	uaccauguac	cuauuccaaa	uaucauauaa	acauuuuuuu	4260
uauaguuauu	aaucuaugau	gaagguaauu	aaaguagauu	auggccuuuu	uaaguauugc	4320
agucuaaaaac	uucaaaaacu	aaaaucuuug	ucaaaaauua	uauuuuuuu	aaucagaaua	4380
ucagaauaug	auucacuaau	uaaacuauga	uaaaauauga	uaauauauga	ggaggccucg	4440
cuauagcaaa	aaauuuuaaa	augcugacau	aacaccaaac	uucauuuuuu	aaaaauucug	4500
uuuuuccaaa	uguguauauu	uuuaaagaaa	uuucuaaagc	aguuuuuuuu	aaugguuugc	4560
cugcuuaaaa	gguaauuuu	aacuucuuuu	cucuucuaa	uugacacaca	gaaauuguc	4620

aauguaaagc	caaaaccauc	uucuguguuu	auggccaauc	uauucucaaa	guuaaaagua	4680
aaaauuguuuc	agagucacag	uucccuuuau	uucacauaag	cccaaacuga	uagacaguaa	4740
cgguguuuag	uuuuauacua	uauuugugcu	auuuauuucu	uucuauuuuc	acaauuauua	4800
aauguguuac	acuuucauuu	cuuuuaaaaa	uguagaaauu	cuucaugaac	auaacucugc	4860
ugaauguaaa	agaaaauuuu	uuuucaaaaa	ugcuguuauu	guauacuacu	ggugguugau	4920
ugguuuuuuu	uuauuguagcu	ugacaauuca	gugacuuaau	aucuauucca	uuuguauugu	4980
acauaaaauu	uucuagaaau	acacuuuuuu	ccaaagugua	aguugugaa	uagauuuuag	5040
caugaugaaa	cugucuuuuu	ggugaauugu	caaucugugu	aagaaaacaa	acuaaaugua	5100
guugucacac	uaaaauuuua	uuggauuuug	augaaaucau	uggccuggca	aaauaaaaca	5160
uguugaauuc	cccaaaaaaa	aaaaaaaaa				5189

5	<210> 5 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)
10	<220> <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C <400> 5 aatattatga ctctggcaac 20
15	<210> 6 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)
20	<220> <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C <400> 6 tgattctctc tgtttctact 20
25	<210> 7 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)
30	<220> <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C <400> 7 tttccgacta ttgatgaggg 20
35	<210> 8 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)
40	<220> <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C <400> 8 ccitttaactt gccatagtcc 20
45	

<210> 9
 <211> 20
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 10 <400> 9
 cctctcattt tctgtgattc 20

 <210> 10
 <211> 20
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 20
 <400> 10
 atctccctgc tgatgttgct 20

 <210> 11
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 30 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 11
 gccgagtgtc ttgcaatat 20

 35 <210> 12
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 40 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 12
 45 tggtaataca tctgcatttc 20

 <210> 13
 <211> 20
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 13
 55 tgagtggctg aatgccccca 20

 <210> 14
 <211> 20
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 14
 tgatgtcctt cgggtggaag 20

5 <210> 15
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

10 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 15
 ggtaaagccc tcacagagct 20

15 <210> 16
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

20 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 16
 ggcccagggtc catggggacc 20

25 <210> 17
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

30 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 17
 atttgtccgt cacaacagcc 20

35 <210> 18
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

40 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

45 <400> 18
 accatttctg aatctaaaac 20

<210> 19
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

50 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

55 <400> 19
 ttgaagttg atcttgcta 20

60 <210> 20
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

<220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 20
 5 tggctgctt gaaactatt 20

 <210> 21
 <211> 20
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 15 <400> 21
 tctgtagcaa tgcagtgata 20

 <210> 22
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 25
 <400> 22
 aagtctctgg tcagaacct 20

 <210> 23
 30 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 35 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 23
 gaacagagcg gatcaggagt 20

 40 <210> 24
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 45 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 24
 ccctgtgaag tggctattat 20

 50 <210> 25
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 55 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 25
 60 tcggtcattc agcttaacct 20

 <210> 26
 <211> 20
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

5

<400> 26
ctttcctcct gtctttgtct 20

<210> 27

10 <211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<220>

15 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 27
ttctgtaaca gccacttgat 20

<210> 28

20 <211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<220>

25 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 28
agatgctctgc ggagacttgg 20

30 <210> 29
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

35 <220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 29
gggcacactc cagaaaagtg 20

40 <210> 30
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

45 <220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 30
gtgttatttt ttactccata 20

50 <210> 31
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

55 <220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

60 <400> 31
ctgcacaatt tcagctgcat 20

<210> 32

<211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 5 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 32
 ttctgtatgc tttagatta 20
 10 <210> 33
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 15 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 33
 20 aatcctctgc attgagtcag 20
 <210> 34
 <211> 20
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 30 <400> 34
 tgggtttcca tgtctcacat 20
 <210> 35
 <211> 20
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 40 <400> 35
 ctgtctctcg gctcctcgt 20
 <210> 36
 <211> 20
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 50 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 36
 ttcccagttg ggtagaatct 20
 55 <210> 37
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 60 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 37
 ggaacaggaa tggccatccc 20

5 <210> 38
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 10 <400> 38
 aggcgcaata aggtccgc 20
 <210> 39
 <211> 20
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 20 <400> 39
 gccaggcagc agtcagcaca 20
 <210> 40
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 30 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 40
 ggctgtacca tagatgtggc 20
 35 <210> 41
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 40 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 41
 agcgggtgcag agatacctgg 20
 45 <210> 42
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 50 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 42
 55 gaaaccctt cattggaact 20
 <210> 43
 <211> 20
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

	<400> 43 cacatacaac tgttgcttt	20
5	<210> 44 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
10	<220> <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
	<400> 44 tagatgaaat ttctattgtt	20
15	<210> 45 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
20	<220> <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
25	<400> 45 gttataggag catgattctt	20
30	<210> 46 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
	<220> <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
35	<400> 46 aaagacttcc agctcctcca	20
40	<210> 47 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
45	<220> <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
	<400> 47 gaatgagctc gccactgaca	20
50	<210> 48 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
55	<220> <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	
	<400> 48 gagttgtag taggaagaac	20
60	<210> 49 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C	

<220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 49
 5 aaccactttt tgcacagtac 20

 <210> 50
 <211> 20
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 50
 15 ccgacatgtt tccgagaaac 20

 <210> 51
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 51
 25 aggacatggt atctccatc 20

 <210> 52
 30 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 35 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 52
 agcagcgttc actcgatcca 20

 <210> 53
 40 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 45 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 53
 cagctatctt tgtatacttg 20

 50
 <210> 54
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 55
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 54
 60 tagtcagtgc caatacgaac 20

 <210> 55
 <211> 20
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

5

<400> 55
aatcaaaggc ctttgtgga 20

10

<210> 56
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

15

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 56
ttggtagat ggaattgtac 20

20

<210> 57
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

25

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 57
atgagaggat ggtccgaat 20

30

<210> 58
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

35

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 58
aaaagtgaca acatcatctg 20

40

<210> 59
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

45

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

50

<400> 59
ggaactcett ggtggtcgc 20

55

<210> 60
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

60

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 60
atattgggtg taaatgctcc 20

<210> 61
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 5
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 61
 10 tctggacaa gttccagggc 20
 <210> 62
 <211> 20
 <211> ADN
 15 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 20 <400> 62
 gaggataagg aattctgccc 20
 <210> 63
 <211> 20
 25 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 30 <400> 63
 tgalaggaaa tcagctgatg 20
 <210> 64
 <211> 20
 35 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 40 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 64
 attgggccct tcttgtggg 20
 45 <210> 65
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 50 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 65
 55 caaaaggccc attaaacaca 20
 <210> 66
 <211> 20
 <211> ADN
 60 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 66

gtctgtatat cagataaatg 20

5 <210> 67
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

10 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 67
atacacacac acggctgac 20

15 <210> 68
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

20 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 68
ctttgaaaac tgagcttgat 20

25 <210> 69
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

30 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 69
gttgtaaaaa tgccatacac 20

35 <210> 70
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

40 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 70
tagtgtgtgc ctcggttat 20

45 <210> 71
<211> 20
<211> ADN

50 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

55 <400> 71
cagtttcag cagaaacaca 20

<210> 72
<211> 20
<211> ADN

60 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

65

<400> 72
 tectctaatt catcaaagtg 20

 5 <210> 73
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

 10 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 73
 tgtttctggg ccgtcttcat 20

 15 <210> 74
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

 20 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 74
 ctgttaccga gcacaccagc 20

 25 <210> 75
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

 30 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 75
 ctcgccttta agaaagtgt 20

 35 <210> 76
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

 40 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 76
 ccactgttg acaaggctac 20

 45 <210> 77
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

 50 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 55 <400> 77
 gcagtccacc agtgtcatta 20

 60 <210> 78
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

 65 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 78
 ggacatattc gagcaatcat 20

5 <210> 79
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

10 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 79
 ggaatgaatc tgttcgtgc 20

15 <210> 80
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

20 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 80
 25 tctgtttatt gtcagtcagt 20

<210> 81
 <211> 20
 <211> ADN
 30 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

<220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

35 <400> 81
 tttctttga agaagaagta 20

<210> 82
 <211> 20
 40 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

<220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

45 <400> 82
 caccttagca tcatttgat 20

<210> 83
 50 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

<220>
 55 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 83
 cagtlaccatc tgggatgaca 20

60 <210> 84
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

65 <220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 84
tgtgcatcta caaacatagg 20

5

<210> 85
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

10

<220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 85
ttcacttagc catttggaat 20

15

<210> 86
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

20

<220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

25

<400> 86
tatgttgatc agttctgacc 20

<210> 87
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

30

<220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

35

<400> 87
gcattcctct tggtaaact 20

<210> 88
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

40

<220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

45

<400> 88
tcgaaaaata gcagcatctg 20

<210> 89
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

50

<220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

55

<400> 89
tcccatgaa atctatatac 20

60

<210> 90
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

5 <400> 90
 attccagaga aaagctcctc 20

<210> 91
 <211> 20
 10 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

<220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

15 <400> 91
 attgatcata acagacaccg 20

<210> 92
 <211> 20
 20 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

<220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

25 <400> 92
 tgttcacglt ggggttgaaa 20

<210> 93
 <211> 20
 30 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

<220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

35 <400> 93
 gaggacggtc cttttccaga 20

40 <210> 94
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

45 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 94
 50 ttcacacttg gagtcaatca 20

<210> 95
 <211> 20
 <211> ADN
 55 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C)

<220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

60 <400> 95
 tgaaaacttg gtcctctgat 20

<210> 96
 <211> 20
 65 <211> ADN

<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

5

<400> 96
ctcctccctc tgttcaagta 20

10

<210> 97
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

15

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 97
agtacagaca ggactgaaag 20

20

<210> 98
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

25

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 98
cgccactccc acagacatac 20

30

<210> 99
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

35

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 99
aaatgtgtgc gattgaaagt 20

40

<210> 100
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

45

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 100
ctgaattaca cggacaaagt 20

50

<210> 101
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

55

<220>

<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 101
tcccacagcc gtgtgtggga 20

60

<210> 102

<211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 5 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 102
 tctttgccag ccattttgca 20
 10 <210> 103
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 15 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 103
 ttcttcaact ttgattgtag 20
 20 <210> 104
 <211> 20
 <211> ADN
 25 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 30 <400> 104
 atgctggcca gaaaacactc 20
 <210> 105
 <211> 20
 35 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 40 <400> 105
 aaagcttctt gacttatatt 20
 <210> 106
 45 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <220>
 50 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 106
 gttaatatc agggaaagaa 20
 55 <210> 107
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 60 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 <400> 107
 tgtgatcttt gcttccaca 20

5 <210> 108
 <211> 20
 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 10 <400> 108
 tatatccggt cctgatcttc 20

 <210> 109
 <211> 20
 15 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 20 <400> 109
 atccattaat aaaatcctgt 20

 <210> 110
 <211> 20
 25 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 30 <400> 110
 agtctaaagg atggtgggaa 20

 <210> 111
 <211> 20
 35 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 40 <400> 111
 aggctgaagt attcagaggt 20

 <210> 112
 <211> 20
 45 <211> ADN
 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C
 50 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <400> 112
 55 cttggtttct cgaagttcat 20

 <210> 113
 <211> 20
 <211> ADN
 60 <213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 <220>
 <223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

 65 <400> 113

caaattgtaa ataaactctt 20

5 <210> 114
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

10 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

gcttggggct gggaagatcc 20

15 <210> 115
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

20 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

ttcacacag atagaacaaa 20

25 <210> 116
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

30 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

taaatactcc aaccaacacg 20

35 <210> 117
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

40 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

caaattgtcc ggaatgccat 20

45 <210> 118
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

50 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

ctttgccagc cattttgcat 20

55 <210> 119
<211> 20
<211> ADN
<213> Secuencia artificial (compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

60 <220>
<223> compuesto de interferencia para la inhibición de la expresión de SEMA3C

<400> 119
tacctgggaa acccctcat 20

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor de SEMA3C para su uso en el tratamiento del cáncer de próstata.
- 5 2. El inhibidor de SEMA3C de la reivindicación 1, en donde el cáncer de próstata es un cáncer de próstata positivo para el receptor de andrógenos (RA).
3. El inhibidor de SEMA3C de las reivindicaciones 1 o 2, en donde el inhibidor de SEMA3C se selecciona entre uno o más de los siguientes: un anticuerpo que se une específicamente a la proteína SEMA3C o a un fragmento de la proteína; un péptido de SEMA3C específico para SEMA3C; un ARN antisentido; un ARNi, en donde el ARN antisentido o el ARNi son capaces de modular la expresión de la proteína SEMA3C; o una molécula pequeña, en donde la molécula pequeña es 2-bromo-N-(2-metoxifenil)propanamida.
- 10 4. El inhibidor de SEMA3C de la reivindicación 3, en el que el anticuerpo se selecciona entre uno o más de los siguientes: un anticuerpo policlonal, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de los mismos, una región Fc monocatenaria (scFc) o un intracuerpo.
- 15 5. El inhibidor de SEMA3C de la reivindicación 3, en el que
 - 20 (a) el ARN antisentido comprende aproximadamente de 15 a 50 nucleótidos que son idénticos en al menos un 80 % a cualesquiera 15 a 50 nucleótidos contiguos seleccionados de la SEQ ID NO: 4;
 - (b) el ARN antisentido comprende aproximadamente de 17 a 30 nucleótidos que son idénticos en al menos un 80 % a cualesquiera 17 a 30 nucleótidos contiguos seleccionados de la SEQ ID NO: 4;
 - (c) el ARN antisentido comprende aproximadamente de 19 a 25 nucleótidos que son idénticos en al menos un 80 % a cualesquiera 19 a 25 nucleótidos contiguos seleccionados de la SEQ ID NO: 4; o
 - 25 (d) el ARN antisentido comprende los nucleótidos de la SEQ ID NO: 2 o una cualquiera o más de las SEQ ID NO: 5-119.
- 30 6. El inhibidor de SEMA3C de la reivindicación 3, en el que
 - (a) el ARNi que inhibe SEMA3C comprende una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido, de aproximadamente 15 a 50 nucleótidos, y en el que la cadena sentido es idéntica en al menos un 80 % a cualesquiera 15 a 50 nucleótidos contiguos seleccionados de la SEQ ID NO: 4;
 - 35 (b) el ARNi que inhibe SEMA3C comprende una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido, de aproximadamente 17 a 30 nucleótidos, y en el que la cadena sentido es idéntica en al menos un 80 % a cualesquiera 17 a 30 nucleótidos contiguos seleccionados de la SEQ ID NO: 4;
 - (c) el ARNi que inhibe SEMA3C comprende una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido, de aproximadamente 19 a 25 nucleótidos, y en el que la cadena sentido es idéntica en al menos un 80 % a cualesquiera 19 a 25 nucleótidos contiguos seleccionados de la SEQ ID NO: 4; o
 - 40 (d) el ARNi que inhibe SEMA3C comprende una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido, y en el que la cadena sentido comprende la SEQ ID NO: 2 o una cualquiera o más de las SEQ ID NO: 5-119.
- 45 7. El inhibidor de SEMA3C de la reivindicación 3, en el que el péptido de SEMA3C comprende al menos 20 aminoácidos contiguos del dominio SEMA expuesto en la SEQ ID NO: 3.
8. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer de próstata, comprendiendo la composición un inhibidor de SEMA3C en combinación con un vehículo fisiológicamente aceptable.
- 50 9. La composición de la reivindicación 8, en donde el cáncer de próstata es un cáncer de próstata positivo para el receptor de andrógenos (RA).
10. La composición de las reivindicaciones 8 o 9 en la que el inhibidor de SEMA3C se selecciona entre uno o más de los siguientes: un anticuerpo que se une específicamente a la proteína SEMA3C o a un fragmento de la proteína; un péptido de SEMA3C específico para SEMA3C; un ARN antisentido; un ARNi, en el que el ARN antisentido o el ARNi son capaces de modular la expresión de la proteína SEMA3C; o una molécula pequeña, en donde la molécula pequeña es 2-bromo-N-(2-metoxifenil)propanamida.
- 55 11. Uso de un inhibidor de SEMA3C para la preparación de un medicamento para tratar el cáncer de próstata.
- 60 12. Un ARN antisentido para su uso en el tratamiento del cáncer de próstata que comprende los nucleótidos de una cualquiera o más de las SEQ ID NO: 5-119.
- 65 13. Un ARNi para su uso en el tratamiento del cáncer de próstata que comprende una región bicatenaria, que tiene una cadena sentido y una antisentido, y en el que la cadena sentido comprende una cualquiera o más de las SEQ ID NO: 5-119.

14. El ARN antisentido o ARNi de las reivindicaciones 12 o 13, en donde el ARN antisentido o el ARNi inhiben SEMA3C.

FIGURA 1

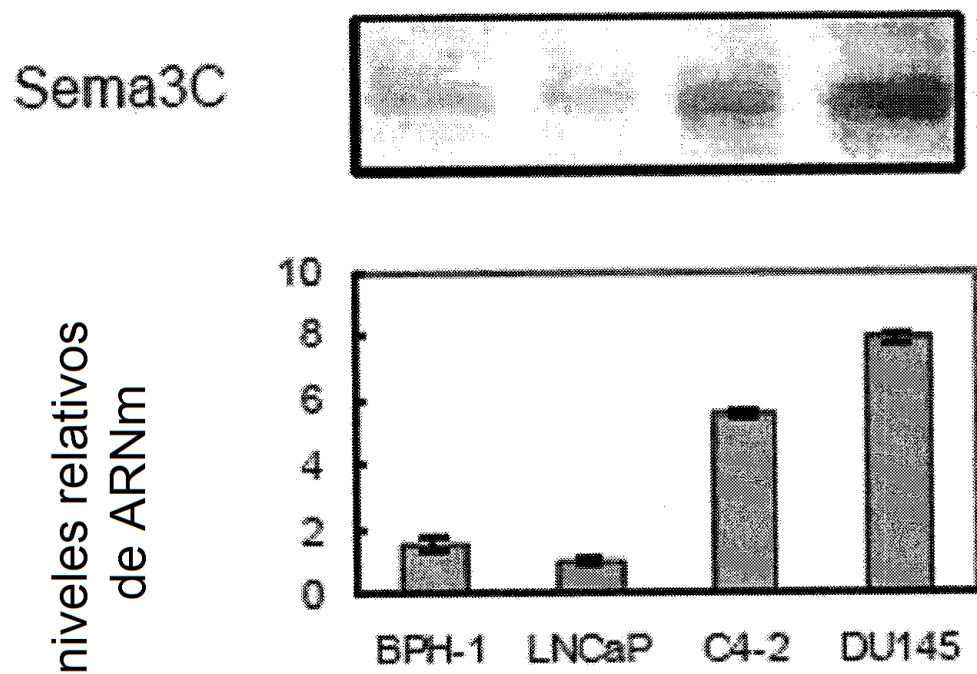


FIGURA 2

A

	Ganancia de sCLU-2	Pérdida de sCLU-2
ID del gen:	Aumento en número de veces	Disminución en número de veces
Clusterina	65	6
NGAL	31	3
sPLA2-IIa	21	2
MIP3a	12	14
MCP-1	9	2
Sema3C	6	2
cIAP2	6	2
MCP-2	5	3

B

Análisis Northern

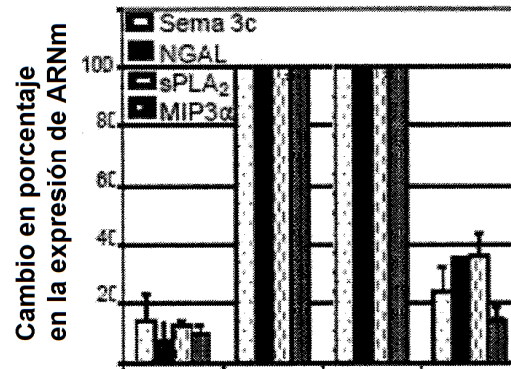
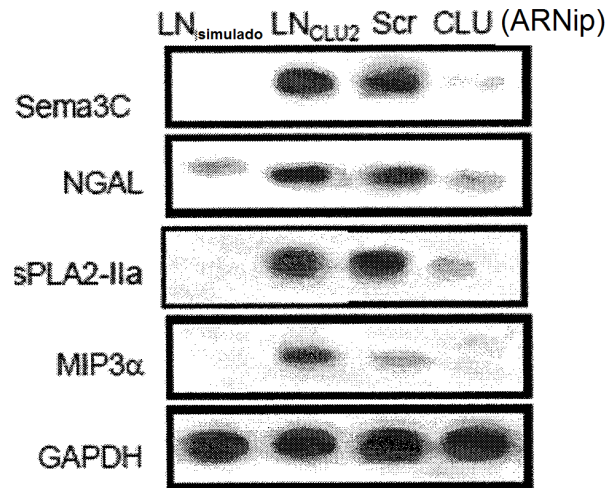


FIGURA 3

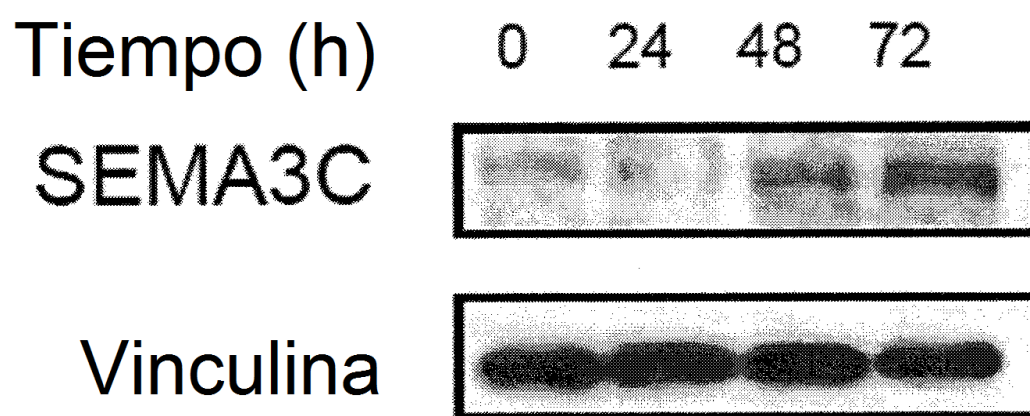
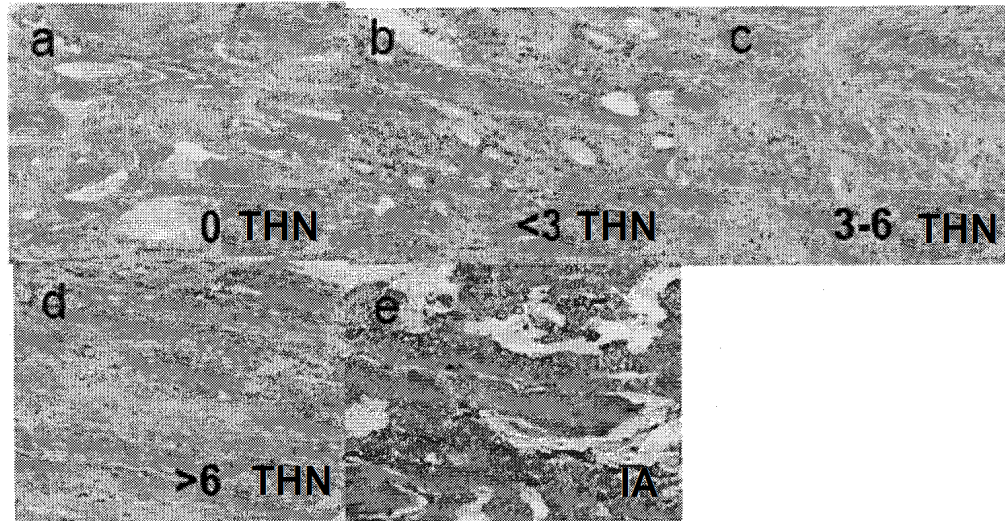


FIGURA 4

A



B

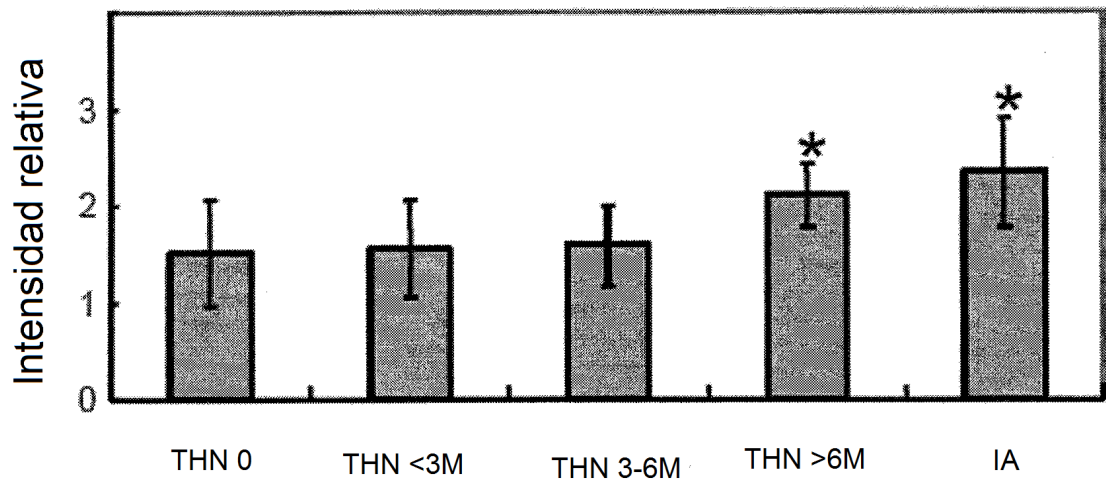


FIGURA 5

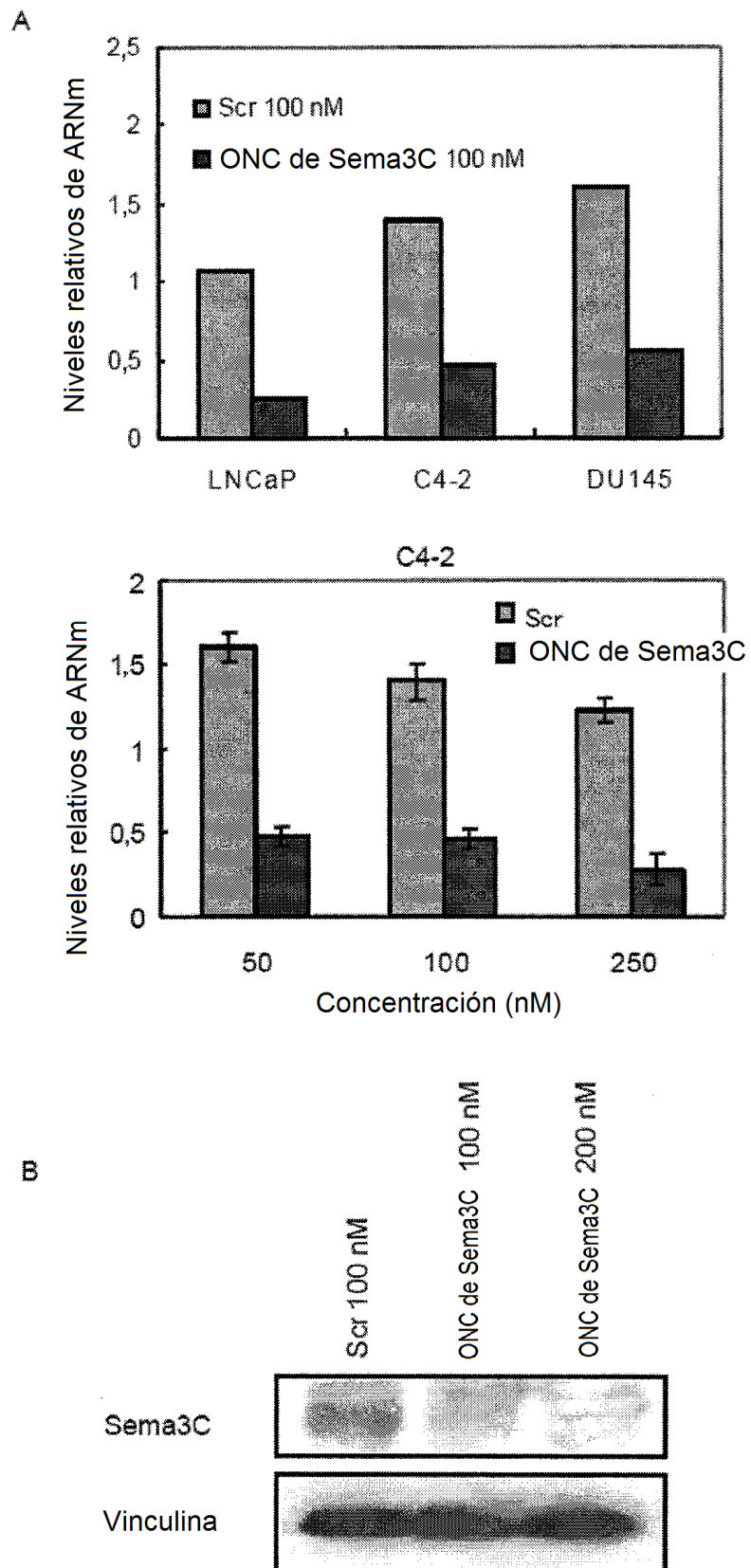


FIGURA 6

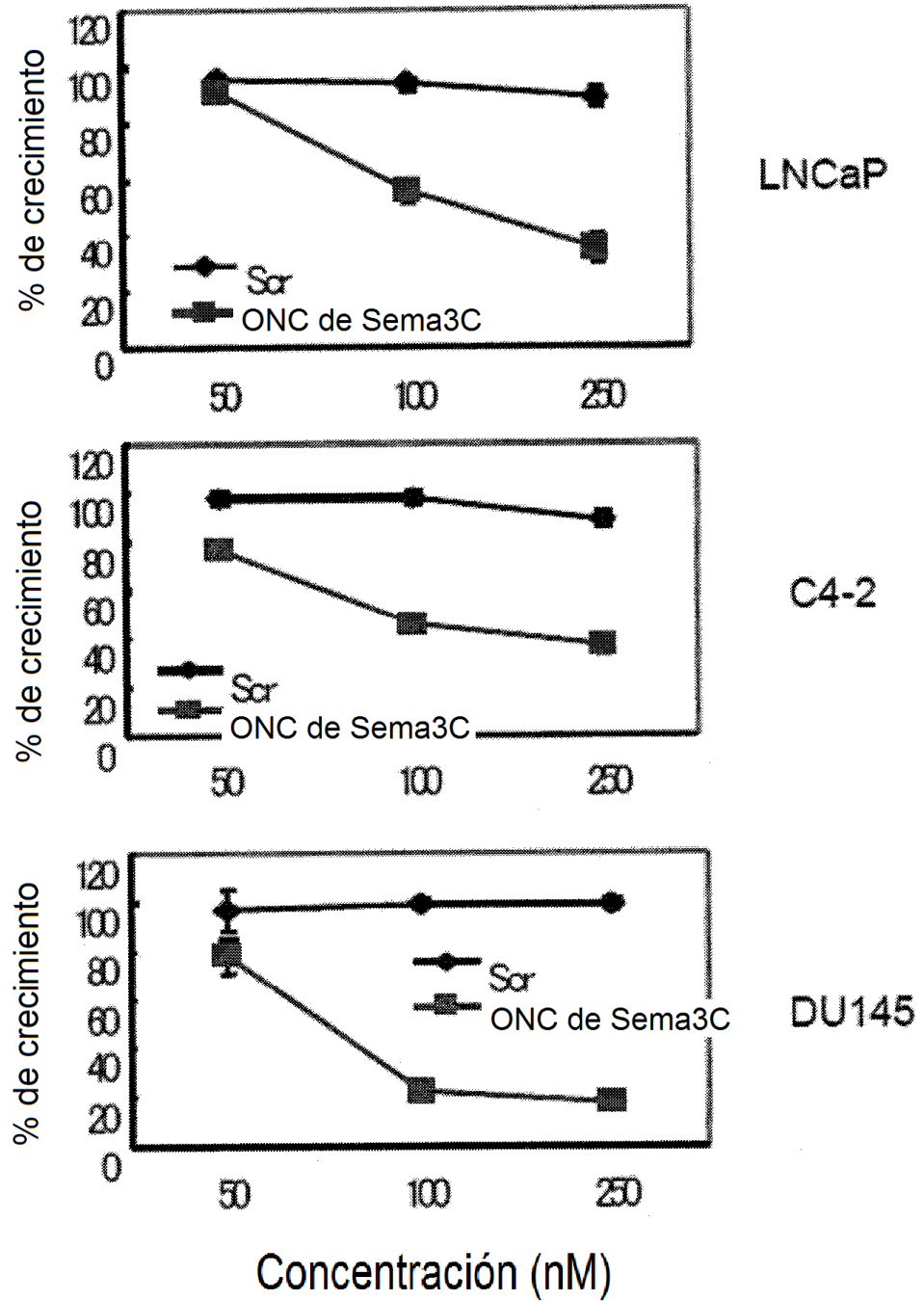
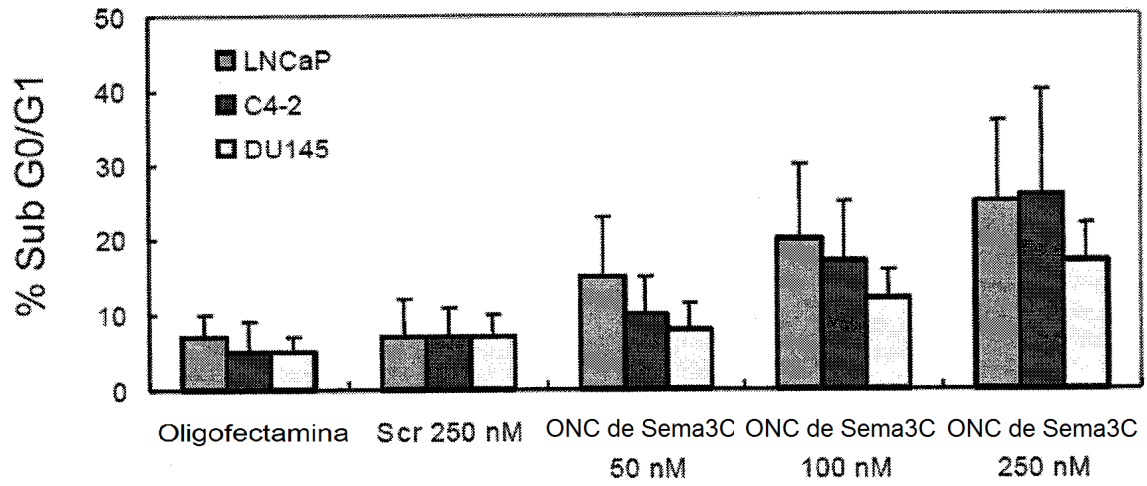


FIGURA 7

A



B

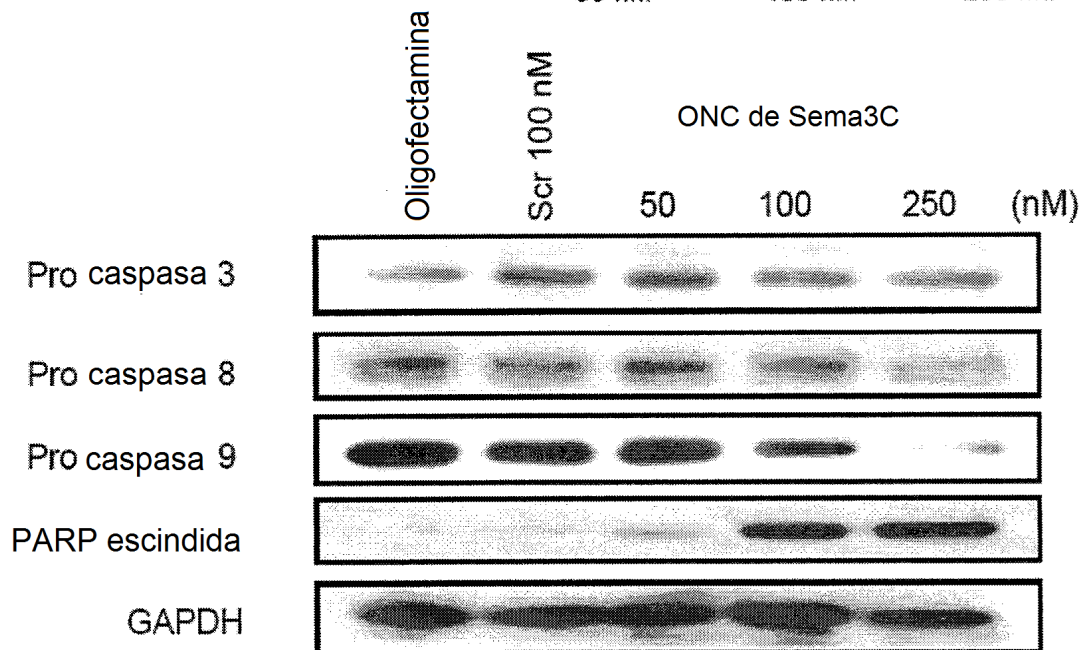


FIGURA 8

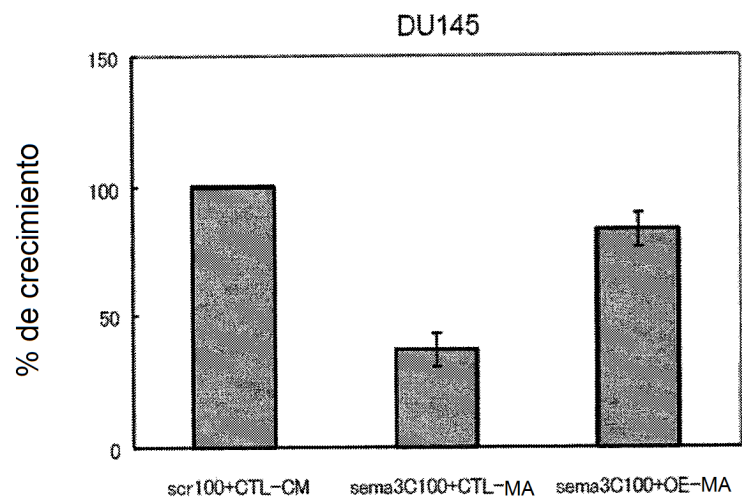
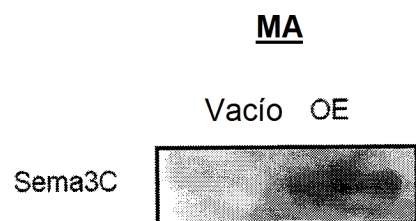


FIGURA 9

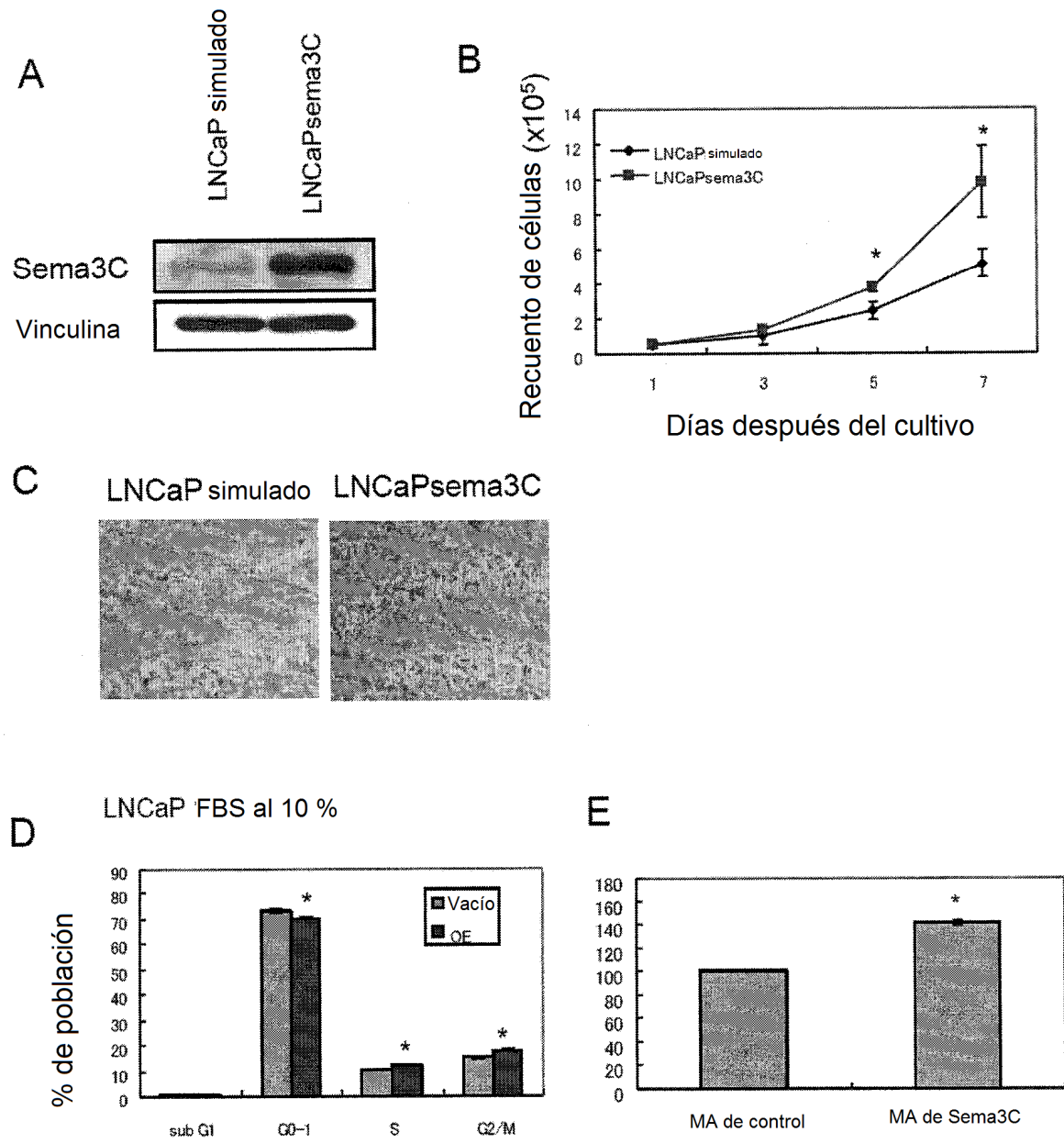


FIGURA 10

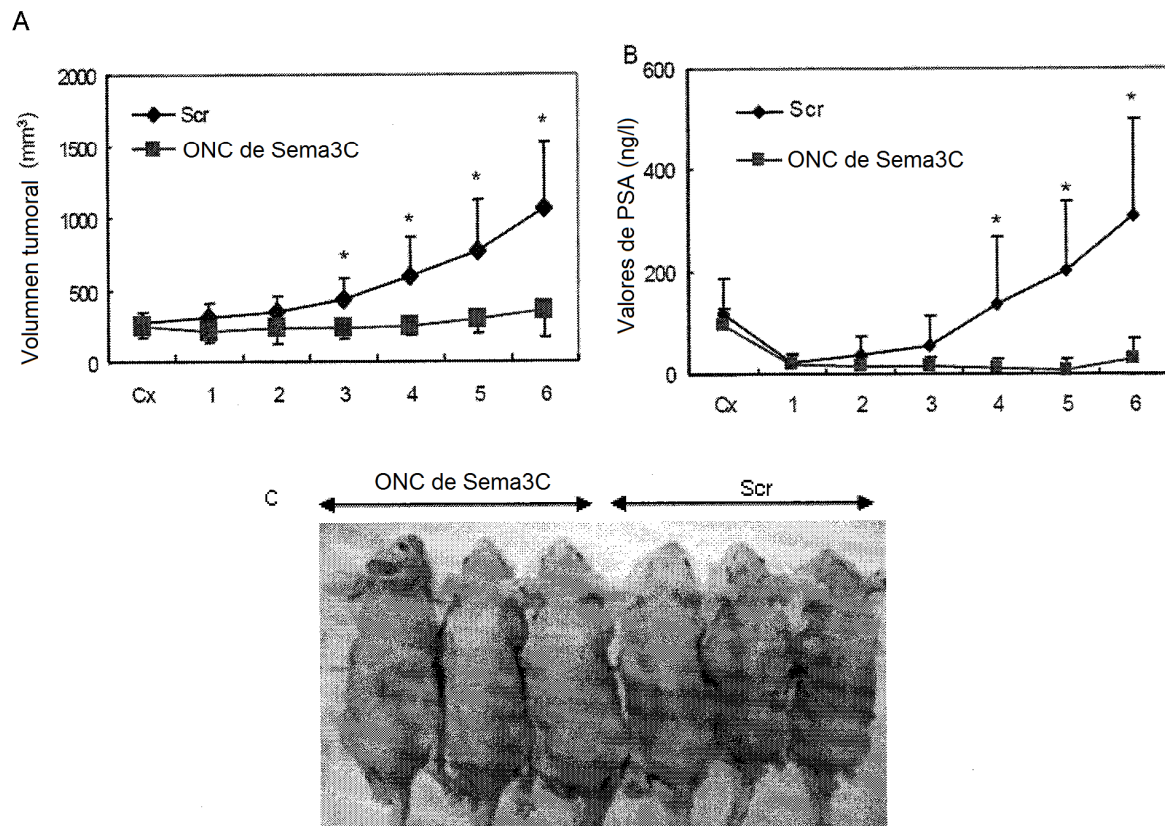


FIGURA 11

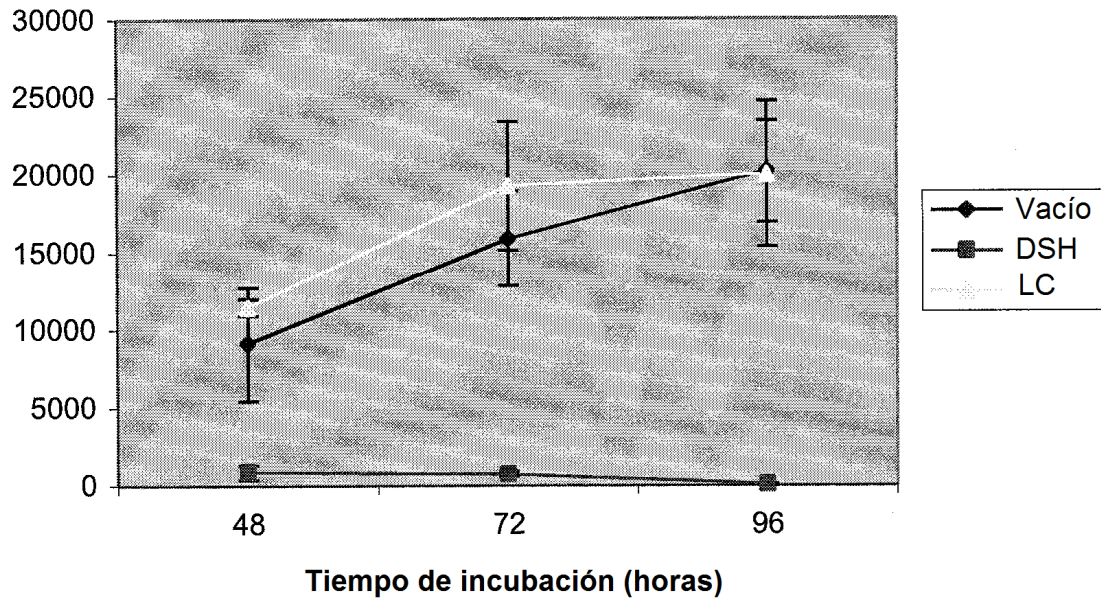


FIGURA 12

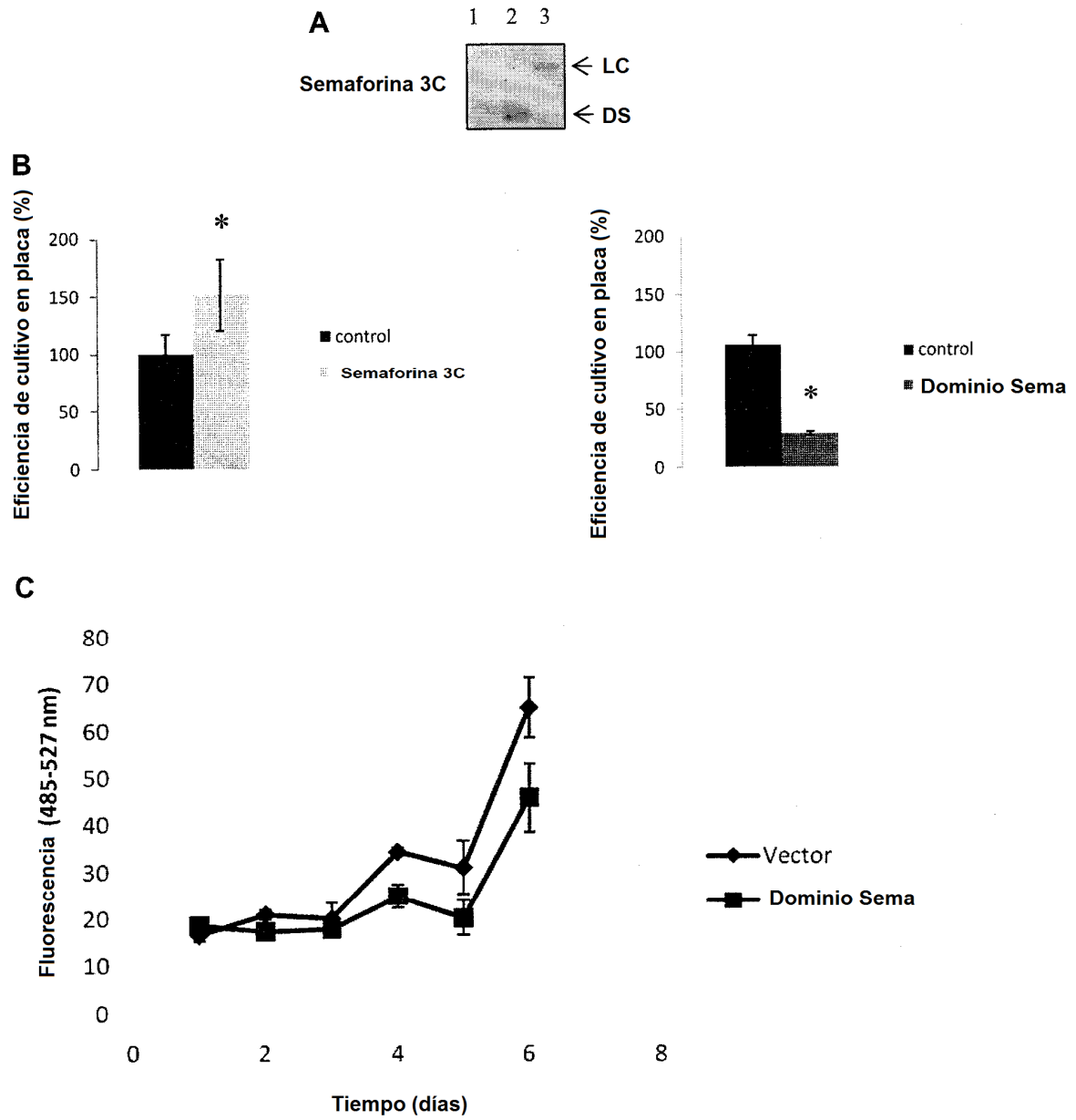


FIGURA 13

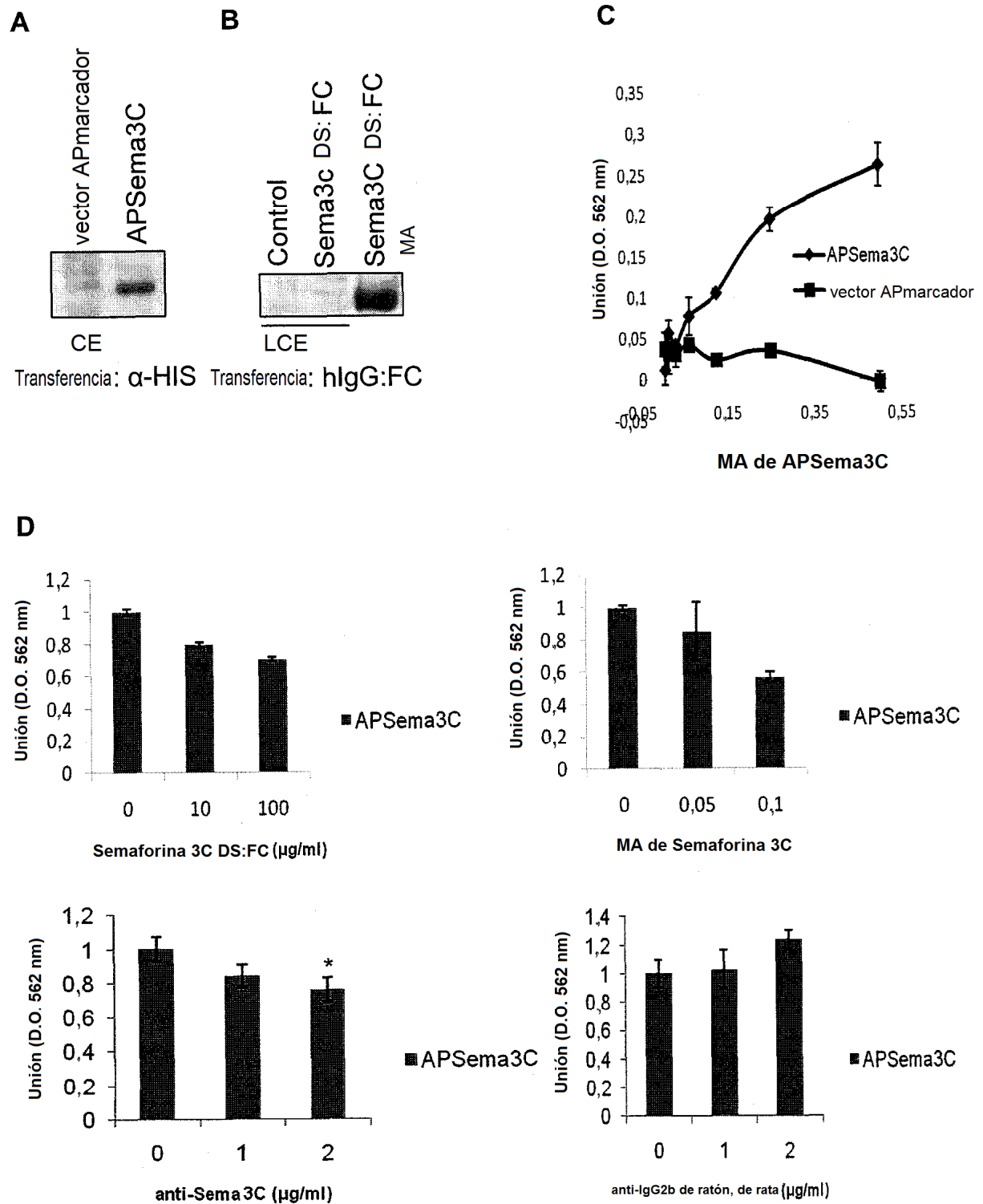


FIGURA 14

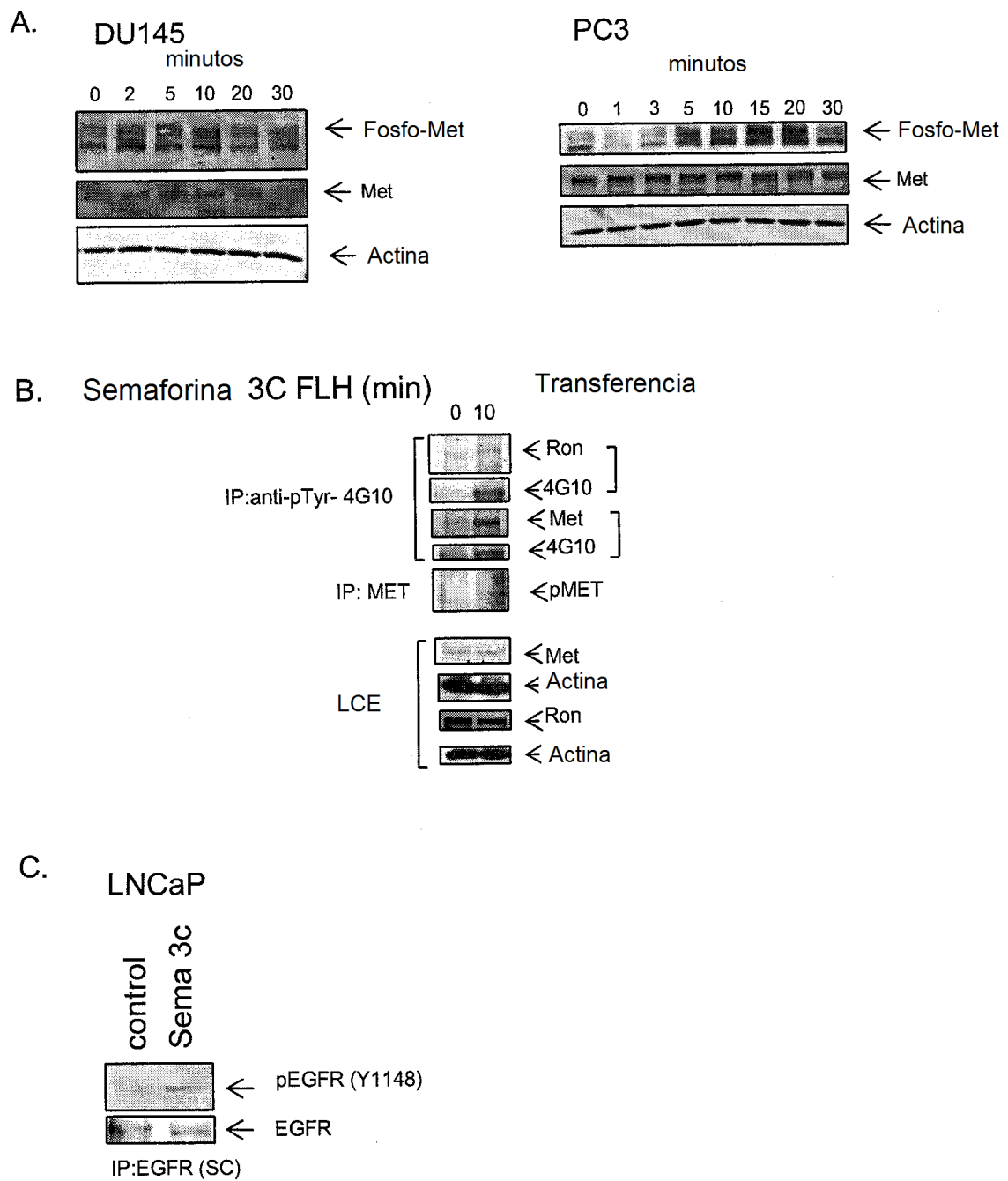


FIGURA 15

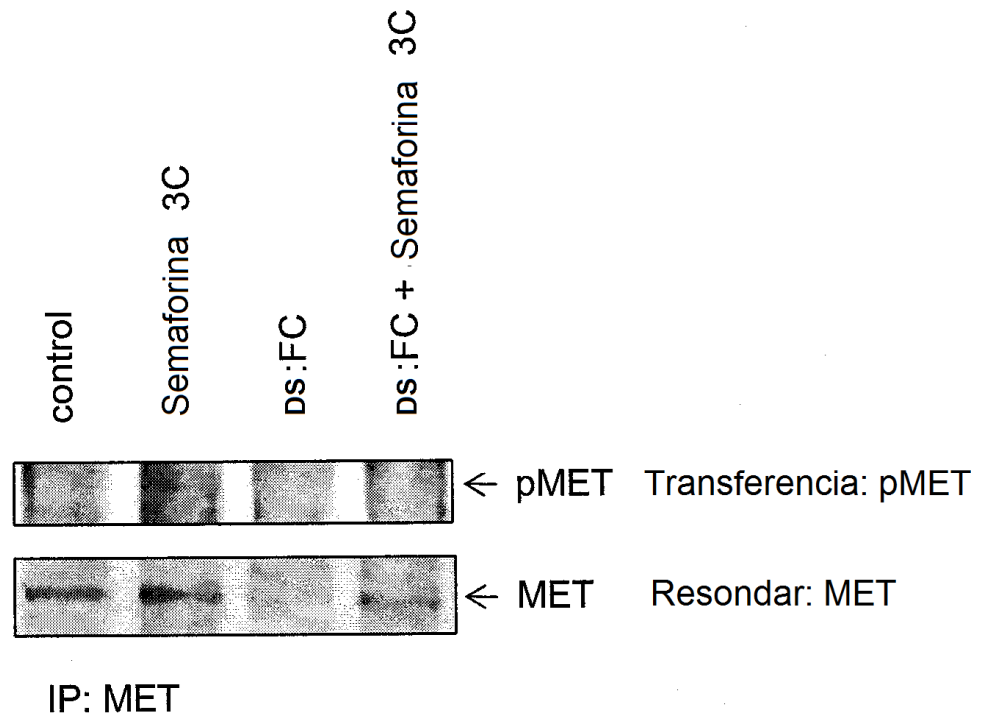


FIGURA 16

